



Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

ÁLIDA FILOMENA ANDRADE

**RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* Cham. EM FUNÇÃO DA
IDADE DE CORTE, HORÁRIO DE COLHEITA E CONDIÇÕES DE SECAGEM**

GURUPI - TO
2015



Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

ÁLIDA FILOMENA ANDRADE

**RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* Cham. EM FUNÇÃO DA
IDADE DE CORTE, HORÁRIO DE COLHEITA E CONDIÇÕES DE SECAGEM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Tocantins como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Tarcísio Castro Alves
de Barros Leal

GURUPI - TO
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi

A553r Andrade, Álida Filomena

Rendimento de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em função da idade de corte, horário de colheita e condições de secagem. / Álida Filomena Andrade. – Gurupi, TO, 2015.
51 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Produção Vegetal, 2015.

Orientador: Prof. Dr. Tarcísio Castro Alves de Barros Leal

1. *Lippia sidoides* Cham. 2. Óleo essencial. 3. Rendimento. 4. Tocantins. I. Leal, Tarcísio Castro Alves de Barros

CDD 635

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

ELABORADO PELO SISTEMA DE GERAÇÃO AUTOMÁTICA DE FICHA CATALOGráfICA DA UFT COM OS DADOS FORNECIDOS PELO (A) AUTOR (A).



Universidade Federal do Tocantins
Campus Universitário de Gurupi
Programa de Pós-Graduação em Ciências
e Ambientais


Defesa nº 08/2015

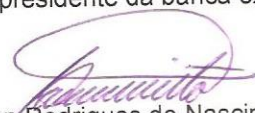
**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE
ANDRADE, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
VEGETAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**

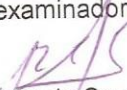
Aos 13 dias do mês março do ano de 2015, às 09:00 horas, na Sala de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Orientador Dr. Tarcísio Castro Alves de Barros Leal do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar do Campus Universitário de Gurupi / Universidade Federal do Tocantins, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder à defesa pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de Álida Filomena Andrade intitulada "Análise da diversidade genética de *Lippia sidoides* Cham. em função da idade de corte, condições de secagem.". Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pela Comissão Examinadora, tendo parecer favorável à aprovação, habilitando-a ao título de Mestre em Produção Vegetal.

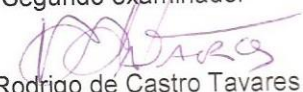
Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada pelos membros da Comissão Examinadora.




Dr. Tarcísio Castro Alves de Barros Leal
Orientador e presidente da banca examinadora


Dr. Ildon Rodrigues do Nascimento
Primeiro examinador


Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar
Segundo examinador


Dr. Rodrigo de Castro Tavares
Terceiro examinador


Dr. Rodrigo Ribeiro Fidelis
Coordenador do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal

Gurupi, 13 de março de 2015

DEDICO

Aos meus pais Levy Rabelo e Maria Mercês;

Ao meu filho Gabriel;

E demais membros da minha família;

Pelo apoio e compreensão incondicional em
todos os momentos da nossa caminhada.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao colega de trabalho e amigo Rogério
Lorençoni por tudo que fez para estar eu aqui
agora e especialmente por ajudar-me aprender a
aprender em todos os momentos sem medir

esforço. Vai estar sempre em minha memória a sua frase “É LER”.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha força interior a qual me permite sempre buscar um novo objetivo.

Ao meu pai Levy que foi meu maior suporte no desenvolvimento do trabalho prático, esteve do meu lado quando tudo que eu tinha eram um projeto e um monte de terra para ser peneirada, foi firme, plantio, colheita, até o momento da extração da última gota de óleo.

A minha mãe Maria Mercês, que ficava na retaguarda, cuidando dos lanches, almoços e que nos meus momentos difíceis sempre me oferecia seu colo.

Meu filho Gabriel por entender minha ausência, aguentar minhas irritações.

A minha família, irmão, irmã, cunhadas, cunhado, sobrinhos (as), que de longe ou perto sempre estiveram do meu lado. A sobrinha Barbará pela ajuda e companhia em uma noite em claro no laboratório.

À Universidade Federal do Tocantins que me permitiu o horário flexibilizado de trabalho e a oportunidade para realização do mestrado

A todos os professores servidores do Programa de Pós-Graduação em produção Vegetal.

Ao meu orientador Prof. Dr. Tarcísio Castro Alves de Barros Leal, pela orientação, compreensão, paciência, confiança estabelecida nestes dois anos de convivência, bem como para o uso do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal, ponto de apoio para todos os trabalhos.

A Tatiani Ferreira por ceder as plantas matrizes para propagação das mudas e informações repassadas.

Ao Prof. Ildon Rodrigues do Nascimento coordenador do Núcleo de Estudos de Olerícolas - NEO pela cessão da área e apoio logístico para implantação do experimento.

Os técnicos de campo, Douglas José, Michel Antônio e Valdere Martins juntamente com a equipe dos funcionários de campo que atenderam minhas solicitações de ajuda ao longo do período.

Aos coordenadores de laboratórios: Prof. Dr. Aurélio Vaz de Melo – Laboratório de Secagem; Prof. Dr. Eduardo Andrea Lemus - Laboratório de Plantas Daninhas; Prof. Dr. Raimundo Wagner de Souza Aguiar - Laboratório de Manejo Integrado de Pragas; por disponibilizar os mesmos para a realização das análises ao longo do projeto, bem como aos seus respectivos técnicos: Carmino Pereira; Thomaz Vieira e bolsistas Bruno e Nayra Morgana e Suetônio Fernandes pela orientação e acompanhamento na realização das análises, aos bolsistas

A todos os alunos do mestrado e doutorado com quais dividi momentos de tensão, mas também de muita descontração, não só nas salas de aula, e nos momentos de trabalho em noites e intermináveis finais de semana tinha lá Marcio Nikkel, Otávio Luz, Ronice Veloso, impossível sentir-se só. Aos amigos integrantes do NEO em especial a minha “filha torta” Kleycianne Marques, pelo apoio desde início dos experimentos, cuidando na minha ausência.

Ao amigo Otávio Luz e seu grupo de pesquisa: Aline, Ana Beatriz, Larissa, Rafael e Thiago e a amiga Ronice Veloso, pela cessão dos aparelhos e revezamento de seu uso para realização das análises e pela metodologia repassada, bem como ao seu grupo: Allan Sales, Hélen Karoline, Jéssica Stefany, João Vinícius e Micaele Rodrigues pela ajuda nas colheitas.

Ao meu coordenador e amigo Clovis Maurílio por entender minhas ausências e pelo contínuo incentivo.

Às minhas sensatas amigas Marcela Silveira e Susana Cristine que sempre estiveram do meu lado e que no meu momento mais difícil não me deixaram desistir, sem palavras, sabem o quanto amo vocês!!!

Aos amigos distantes que nos momentos de desânimo foram importantes pela força e carinho, diante dos meus desabafos digitados: Antônio Pereira, Bruno Vizioli e José Fernando,

A todos que direta ou indiretamente colaboraram, torceram e estimularam a realização deste trabalho.

RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* Cham. EM FUNÇÃO DA IDADE DE CORTE, HORÁRIO DE COLHEITA E CONDIÇÕES DE SECAGEM
ANDRADE, A. F. ⁽¹⁾ LEAL, T. C. A. B ⁽²⁾ 2015. ¹Discente concluinte no Curso de Mestrado em Produção Vegetal; ² Professor Doutor Orientador.

RESUMO

Lippia sidoides Cham (alecrim pimenta) é uma planta medicinal e aromática nativa do nordeste brasileiro, se extrai o óleo essencial para uso bactericida, fungicida, moluscida e larvicida. O presente trabalho avaliou o efeito da idade de corte, horário de colheita e condições para as plantas de *Lippia sidoides* Cham. sobre a produção do seu óleo essencial nas condições da região sul do Tocantins. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação em aparelho Clevenger, pelo tempo de uma hora e vinte minutos igualmente para todas as amostras. Foram realizados três experimentos. No experimento 1, comparou-se a produção de óleo essencial das plantas aos 90, 120, 150, 180, 210 e 240 DAT. No experimento 2, comparou-se o teor do óleo de amostras de folhas colhidas nos horários de 0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas. E, no experimento 3, comparou-se o teor de óleo essencial em função de temperatura (30, 40 e 50°C) e tempo de secagem (24, 48 e 72 horas). A tendência de maior teor de óleo seria em torno dos 87,5 DAT, diminuindo para cortes anteriores ou posteriores a esta. Os maiores valores para massa seca situando-se aos 210 DAT seguindo-se a tendência de redução desta variável a partir do citado período. Os maiores valores de produtividade de óleo essencial por planta ocorrem em torno dos 220 DAT, evidenciando essa data como a de tendência de maior produtividade. Conclui-se, que aos 220 dias após o transplântio ocorre uma produção de 5,75 g de óleo essencial por planta, alcançado a produtividade de óleo essencial de 57,5 kg ha⁻¹. O tempo na secagem não influenciou no teor de óleo essencial. Porém a temperatura de 40 °C proporciona máxima conservação do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e consequentemente maior teor do mesmo.

Palavras- chave: *Lippia sidoides* Cham.; óleo essencial; rendimento, Tocantins

ESSENTIAL OIL YIELD *Lippia sidoides* Cham. CROSS OF AGE-RELATED ASSIGNMENTS, HARVEST TIME AND CONDITIONS OF DRYING. ANDRADE, A. F. ⁽¹⁾ LEAL, T. C. A. B ⁽²⁾ 2015. ¹Discente concluinte no Curso de Mestrado em Produção Vegetal; ² Professor Doutor Orientador.

ABSTRACT

Lippia sidoides Cham. (Rosemary pepper) is a native medicinal and aromatic plant in northeastern Brazil, extract the essential oil for use bactericide, fungicide, molluscicide and larvicide. This study evaluated the effect of cutting age, harvest time and conditions for the plant *Lippia sidoides* Cham. on the production of essential oil in the conditions of southern Tocantins region. The essential oil extraction was performed by hydrodistillation in Clevenger apparatus, the time of one hour and twenty minutes for all samples equally. Three experiments were conducted. In one experiment, we compared the production of essential oil from plants at 90, 120, 150, 180, 210 and 240 DAT. In experiment 2, compared the leaf samples Oil content collected at the times of 0, 4, 8, 12, 16 and 20 hours. And in experiment 3 compared the essential oil content in function of temperature (30, 40 and 50 ° C) and drying time (24, 48 and 72 hours). The tendency to higher oil content would be around 87.5 DAT decreasing to previous cuts or subsequent thereto. The highest values for dry mass standing at 210 DAT followed the downward trend of this variable from that period. The largest essential oil yield per plant values occur around 220 DAT, showing that date as the greater productivity trend. It follows that to 220 days after transplanting is a production of 5.75 g of essential oil per plant, achieved the essential oil yield of 57.5 kg ha⁻¹. The drying time did not influence the essential oil content. However, the temperature of 40 ° C provides maximum conservation of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and consequently higher content thereof.

Key words: *Lippia sidoides* Cham.; essential oil content; yield ,Tocantins.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2.1	Plantas Medicinais	11
2.2	Fitoterapia no Brasil	11
2.3	Metabolismo Vegetal	13
2.4	Óleos Essenciais e suas Funções nas Plantas.....	14
2.5	Interação Metabólica entre Planta e Ambiente.....	15
2.5.1	Temperatura e luminosidade.....	16
2.5.2	Horário de colheita	17
2.5.3	Pós-colheita.....	18
2.5.4	Estádio de desenvolvimento	19
2.6	O Gênero <i>Lippia</i> , suas Espécies e Uso Medicinal.....	21
2.7	A <i>Lippia sidoides</i> Cham.....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Propagação e Obtenção de Mudas.....	24
3.2	Detalhes Experimentais e Condução dos Experimentos	25
3.3	Experimento 1: Idade de Corte	25
3.4	Experimento 2: Horário de Colheita	26
3.5	Experimento 3: Condições de Secagem	26
3.6	Determinação da Matéria Seca	26
3.7	Determinação do Teor de Óleo	27
3.8	Dados Estatísticos	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1	Experimento 1: Idade de Corte	28
4.2	Experimento 2: Horários de Colheita.....	33
4.3	Experimento 3: Condições de Secagem	36

5	CONCLUSÕES GERAIS	40
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Análises físico-químicas do substrato utilizado para produção de mudas e crescimento das plantas de alecrim pimenta	25
------------------	---	----

Tabela 2.	Análise da variância do teor de óleo essencial (%) de plantas de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em relação à combinação de diferentes temperaturas e tempos de secagem.....	36
------------------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.....	14
Figura 2. Fluxograma dos principais fatores que influenciam a produção de metabolitos secundários das plantas medicinais.	16
Figura 3. Umidade relativa do ar (UR), temperatura média (Tm) e temperatura máxima (Tmx), obtidos através da estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET,2015) para Gurupi ocorridos entre dezembro de 2013 e agosto de 2014 durante a condução do experimento.	24
Figura 4. Curvas de resposta do teor de óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em função da variação do tempo das coletas.	29
Figura 5. Curvas de resposta da massa seca de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em função da variação do tempo das coletas.	31
Figura 6. Curvas de resposta da produtividade de óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em função da variação do período de coleta.	32
Figura 7. Curvas de resposta do teor de óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em função da variação dos horários de colheita.....	34
Figura 8: Teor de óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em resposta à combinação de diferentes tempos e temperaturas de secagem. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.	37
Figura 9. Curvas de resposta da produtividade de óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. em função da variação do período de coleta.	39

1 INTRODUÇÃO

A busca do homem por drogas e cosméticos na natureza remonta a um passado distante, sendo demonstrada por inúmeras fontes, que vão desde documentos escritos, monumentos preservados até o cultivo e domesticação dessas plantas nos dias de hoje. Ao longo do tempo, as razões para uso de plantas medicinais no tratamento de doenças específicas foram sendo descobertas. Assim, sua utilização vem deixando de ser empírica, para fundamentar-se em resultados experimentais.

A fitoterapia no Brasil é uma prática terapêutica consagrada pela cultura popular, devido principalmente à sua comprovada eficiência e baixo custo operacional, o que vem despertando interesses de pesquisadores das áreas de botânica, farmacologia e fitoquímica. A associação dos conhecimentos populares aos técnico-científicos tem permitido grandes avanços, tanto no reconhecimento de plantas com potencial para uso medicinal, como quanto ao cultivo das mesmas, atendendo, assim, a crescente demanda do mercado e priorização de melhores padrões de qualidade.

No Brasil, a maior parte das pesquisas realizadas com plantas medicinais tem dado enfoque principalmente às características fitoquímicas e farmacológicas dos óleos essenciais, ao passo que as pesquisas relacionadas a fatores ecológicos e adaptativos, como o estabelecimento das espécies sob diferentes ambientes de cultivo, só começam a se destacar agora.

Na dinâmica de crescimento e desenvolvimento, as plantas medicinais e/ou aromáticas apresentam alterações bioquímicas e fisiológicas capazes de modificar a elaboração de substâncias biologicamente ativas, nos aspectos qualitativos e quantitativos (TAIZ e ZEIGER, 1998) influenciando diretamente no rendimento e na qualidade dos óleos essenciais.

O teor e a composição química dos óleos essenciais são determinados por caracteres genéticos, que, ao associar-se com diferentes fatores ambientais, podem resultar no redirecionamento da rota metabólica, ocasionando a biossíntese de compostos diferentes, levando a alterações significativas no teor, qualidade e concentração de princípios ativos de interesse nos óleos essenciais (MORAIS, 2009).

A importância medicinal, bioquímica e ornamental das diversas espécies de *Lippia* é relatada na literatura (PASCUAL et al., 2001). O alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) é uma planta medicinal da família Verbenácea, que apresenta comportamento caducifólio, porte ereto, com até três metros de altura e possui folhas aromáticas e picantes, as quais contêm óleo essencial rico em timol e carvacrol (LORENZI e MATOS, 2008). Esses metabólitos são conhecidos por apresentarem atividade antibacteriana e antifúngica (BRUNETON, 1999), sendo esta espécie muito utilizada popularmente como analgésico, sedativo e expectorante (MARTINS et al., 1994; LORENZI e MATOS, 2002). O interesse vem se multiplicando principalmente após a *Lippia sidoides* Cham. constar no RESUNIS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (BRASIL, 2009b).

A avaliação das interações dos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas, como a época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós colheita pode proporcionar a maximização da produção de constituintes ativos de espécies medicinais e aromáticas (LIMA et al., 2003), permitindo a obtenção de materiais com alta qualidade durante todo o ano, e garantindo sua disponibilidade em maior quantidade.

Em virtude da falta de pesquisas relacionadas a fatores passíveis de induzir alterações na concentração e composição dos óleos essenciais da *Lippia sidoides* Cham. este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito da idade de corte das plantas, horário de colheita das folhas e combinação de diferentes tempos e temperaturas de secagem das folhas sobre a produção do seu óleo essencial.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plantas Medicinais

Planta medicinal é aquela que contém um ou mais princípios ativos, tornando-a passível de uso terapêutico (MARTINS et al., 1995), a sua utilização remonta desde 2300 a.C., onde povos, como os egípcios, assírios e hebreus já as cultivavam e coletavam durante suas expedições. Atualmente, a arte da utilização de plantas para fins terapêuticos herdada de magos e feiticeiros da antiguidade ainda é utilizada por benzedores, curandeiros e xamãs, e pode ser vista, em testes laboratoriais, onde a veracidade dessas informações pode ser testada experimentalmente (DI STASI, 1996; RIOS e RECIO, 2005).

O tratamento das enfermidades humanas a partir de plantas medicinais, ou seus derivados, além de ser uma prática antiga, encontra-se em expansão por todo o mundo, estimando-se que, na década de 90 os produtos à base de plantas medicinais movimentaram cerca de 30 bilhões de dólares anuais (ENGELKE, 2003). Tal fato pode estar relacionado aos efeitos indesejáveis e prejuízos causados pelo uso abusivo e/ou incorreto de medicamentos sintéticos, o fato de que amplas camadas da população mundial não têm acesso aos medicamentos alopáticos e a crença popular de que o natural é inofensivo (RATES, 2001).

No Brasil, a utilização das plantas com finalidade místicas e terapêuticas teve trajetória semelhante à ocorrida no restante do mundo. Segundo Martins et al. (1995), no Brasil as plantas medicinais sempre estiveram ligadas ao misticismo, já que eram utilizadas por índios com finalidades entorpecentes em seus rituais. No entanto, com o passar do tempo, passaram a ser alvo de estudos na busca por formulações de medicamentos e cosméticos.

2.2 Fitoterapia no Brasil

A crescente utilização das plantas medicinais no Brasil, como em outros países, foi estimulada pelas necessidades de cuidados com a saúde da população, facilidade de acesso, baixo custo, menores efeitos colaterais comparados aos

fármacos sintéticos e crescente interesse de exploração pelas indústrias farmacêuticas (BERG, 1993; CARRARA, 1995; SIMÕES et al., 1998).

No Brasil, as plantas medicinais têm sido bastante utilizadas no intuito da identificação e isolamento de biomoléculas vegetais que possam ser utilizadas no tratamento de doenças. Porém, na transformação de um vegetal em medicamento, deve-se atentar para suas propriedades químicas e farmacológicas, de maneira a garantir todo seu potencial terapêutico e segurança no tratamento da enfermidade, sendo necessário, para tanto, conhecimento detalhado de aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos e farmacológicos (ROCHA, 2011).

Segundo Simões et al. (2003), o Brasil apresenta a maior diversidade genética vegetal do planeta, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, tornando-o o país com maior potencialidade para a descoberta de biomoléculas vegetais com capacidade terapêuticas. No entanto, essa riqueza encontra-se em um estágio inicial de conhecimento (CALIXTO, 2003).

A exploração da biodiversidade brasileira pode levar à identificação de novos metabólitos secundários capazes de servir como fitoterápicos ou conduzir ao desenvolvimento de fármacos semi-sintéticos ou sintéticos, o que reduziria em muito os custos e o tempo de pesquisa para o desenvolvimento de um novo medicamento sintético (CALIXTO, 2003). A identificação de plantas com potencialidades farmacológicas aumenta proporcionalmente com a diversidade de espécies vegetais. No entanto, mesmo numa flora com elevada diversidade biológica como a brasileira, o seu potencial fitoterápico ainda tem sido pouco explorado.

A exploração dos recursos genéticos vegetais ainda é realizada quase que exclusivamente de forma extensiva e extrativista de materiais silvestres (RODRIGUES e CARVALHO, 2001), ocasionando sérios impactos à sustentabilidade de algumas espécies, surgindo, assim, a necessidade de geração de conhecimentos que compreendam aspectos fitotécnicos relacionados ao cultivo das plantas medicinais (CASTRO et al., 2006).

2.3 Metabolismo Vegetal

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica. O metabolismo nada mais é do que o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário (ASHIHARA et al., 1996).

Entende-se por metabolismo primário o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos envolvidos no metabolismo primário apresentam distribuição universal nas plantas. Esse é o caso dos aminoácidos, dos nucleotídeos, dos lipídios, carboidratos e da clorofila (BRISKIN, 2000).

A composição química desses óleos contidos em diferentes espécies é bastante complexa e sofre influência, tanto do material genético da planta, quanto das condições climáticas, de colheita e pós-colheita (LAVABRE, 1992). Assim, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente. Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos (BEZERRA et al., 2008).

Em contrapartida, o metabolismo secundário origina compostos que não possuem distribuição universal, pois não são necessários para todas as plantas e como consequência prática, esses compostos podem ser utilizados em estudos taxonômicos, quimiosistemática (CUNNINGHAM, et al., 1998).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides (Figura 1). Os terpenos são elaborados a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido mevalônico. Por fim, os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e também de aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina) (WINKEI, SHIRLEY et al., 2001).

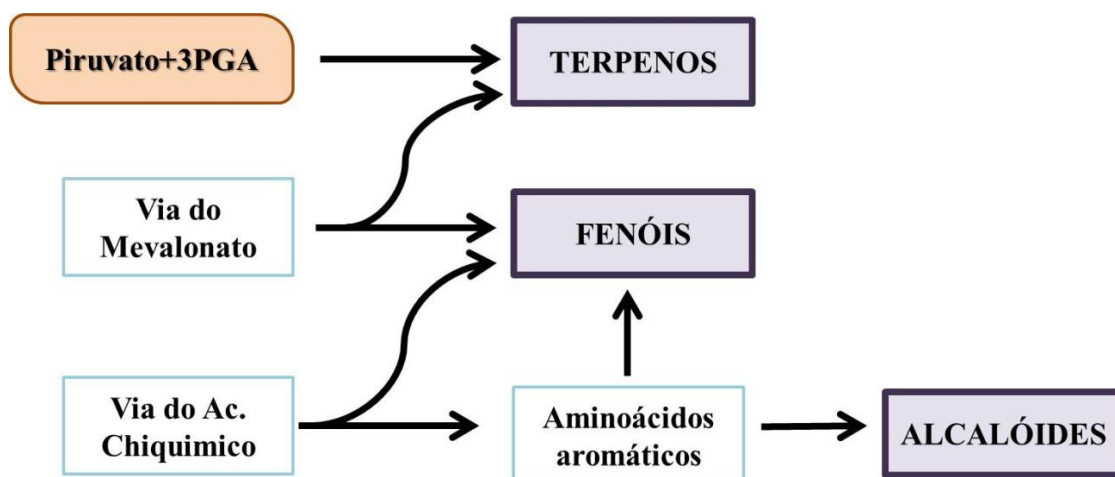


Figura 1. Fluxograma das principais vias do metabolismo secundário e suas interligações.

Dentre os compostos produzidos pelo metabolismo secundário destacam-se os óleos essenciais, que apresentam importantes aplicações de caráter farmacêutico e cosmético.

2.4 Óleos Essenciais e suas Funções nas Plantas

Óleos essenciais são elementos voláteis contidos em diversos órgãos vegetais, e estão relacionados à sobrevivência vegetal (LIMA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2012). Alguns óleos essenciais obtidos de plantas são considerados fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas, pois os mesmos são sintetizados em resposta do ataque de agentes patogênicos e herbivoria (KELSEY et al., 1984). Tem sido estabelecido cientificamente que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (BHAVANANI e BALLOU, 1992).

Desde a antiguidade, os óleos essenciais são utilizados como perfumes, flavorizantes e conservantes (BAUER e GARBE, 2001). São conhecidos cerca de 3.000 óleos essenciais, dos quais 300 são comercialmente importantes, especialmente para as indústrias farmacêutica, agrônômica, alimentícia, e principalmente para fabricação de cosméticos e perfumes (BAKKALI et al., 2008). Plantas medicinais ricas em óleos essenciais são empregadas *in natura* para a preparação de infusões e/ou sob a forma de outras preparações simples. Podem ser utilizados na indústria farmacêutica para síntese de vitaminas, hormônios, antibióticos e antissépticos (BRUNETON, 1995).

Os constituintes químicos dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, onde um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores concentrações e alguns em baixíssimas quantidades (traços) (SIMÕES et al., 2007).

Os terpenos constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, que derivam de unidades do isopreno. A classificação dos terpenos é feita pelo número de ligações de unidades de isopreno, onde o número de unidades incorporadas em determinado terpenóide hidrocarbônico insaturado serve de base para esta classificação. Os compostos terpênicos mais frequentes nos óleos voláteis são os monoterpenos (cerca de 90 % dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos. Os monoterpenos são compostos de duas unidades de isopreno e tem fórmula molecular $C_{10}H_{16}$; os sesquiterpenos contêm três unidades e sua fórmula molecular é $C_{15}H_{24}$ (SIMÕES et al., 2007).

2.5 Interação Metabólica entre Planta e Ambiente

Diversos fatores abióticos (Figura 2) têm sido relacionados como influentes em alterações na produção de metabólitos secundários, podendo levar a alteração na quantidade e composição dos metabólitos de interesse (BARROS et al., 2009; MORAIS, 2009). Dentre tais fatores, pode-se ressaltar a luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de colheita, bem como técnicas de colheita e pós-colheita (BATISTA NETO, 2012). É válido destacar que estes fatores podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário.

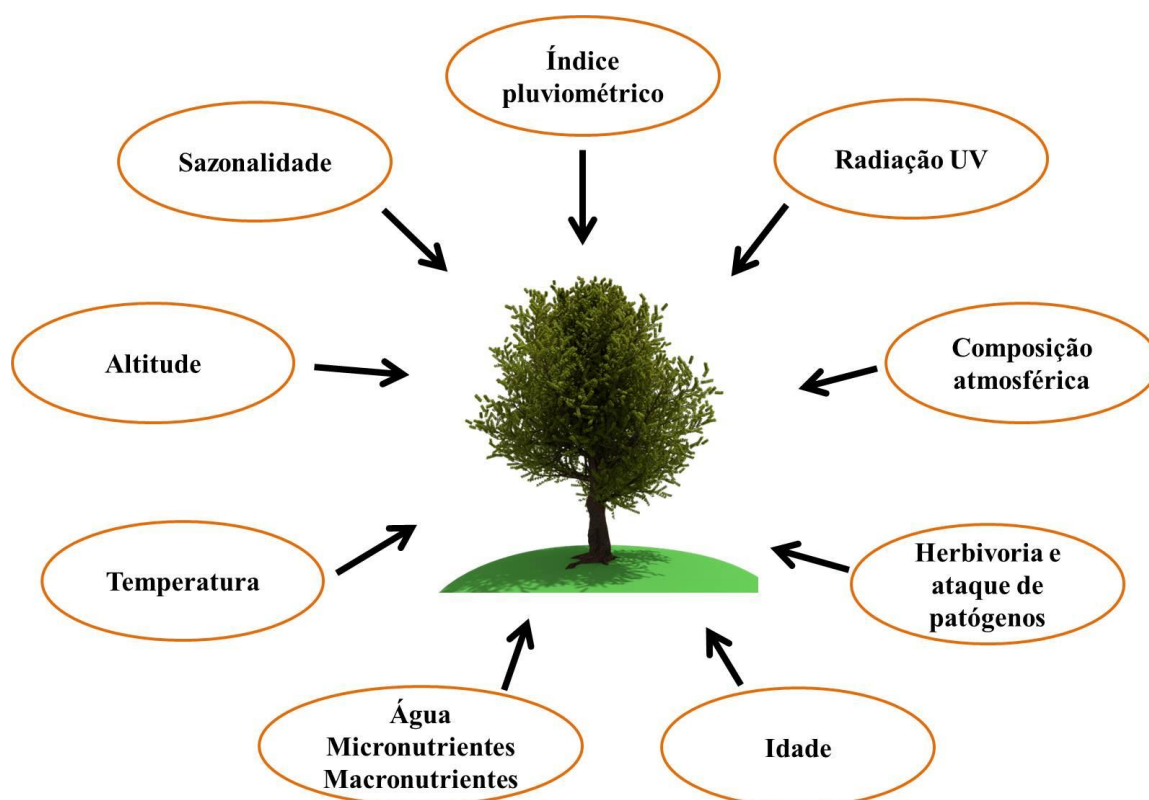


Figura 2. Fluxograma dos principais fatores que influenciam a produção de metabólitos secundários das plantas medicinais.

2.5.1 Temperatura e luminosidade

A temperatura e a luminosidade apresentam papel relevante na fotossíntese, pois a interação destes fatores poderá garantir o ambiente ideal para este processo fisiológico (SOUZA et al., 2008). Apesar de as espécies terem se adaptado ao seu habitat natural, os vegetais são capazes de resistir a grandes variações de temperatura. No entanto, estas variações podem causar alterações na produção de metabólitos secundários. Os óleos essenciais, na maioria das vezes, apresentam aumento em seu teor quando as plantas produtoras se encontram em ambientes com temperatura elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos (BATISTA NETO, 2012).

A maior produção de metabólitos secundários sob altos níveis de radiação solar é explicada por as reações biossintéticas serem dependentes de suprimentos de esqueletos carbônicos, realizados por processos fotossintéticos e de compostos energéticos que participam da regulação dessas reações (TAIZ e ZEIGER, 2004).

2.5.2 Horário de colheita

Os fatores ambientais podem causar alterações nas plantas, pois o aroma de cada espécie varia ao longo do dia, demonstrando que o horário de colheita do material pode ser um fator importante para a produção de óleos essenciais (NASCIMENTO et al., 2006). Segundo Martins e Santos (1995), existem horários em que a concentração dos princípios ativos na planta é maior, mas isso varia de espécie para espécie. De acordo com SILVA et al. (2003), os menores teores de óleo essencial podem estar relacionados à presença de orvalho sobre as folhas, que aumentam a umidade e diminuem a quantidade de material a ser extraído, e às altas temperaturas, que podem causar volatilização do óleo essencial (FONSECA et al., 2007).

Em ensaios realizados com *Melissa officinalis*, em dois horários de coleta, Blank et al. (2005) concluíram que houve inversão no percentual de compostos majoritários do óleo essencial, obtendo-se 49,0% de neral e 34,4% de geranial às 9h, e 34,1% e 50,8% às 15h para neral e geranial, respectivamente. Esta alteração na composição do sobrenadante de óleo essencial pode ocasionar respostas diferenciadas em ensaios com fitopatógenos, pois, o composto provavelmente responsável pela atividade biológica, pode ter sua concentração no sobrenadante de óleo essencial alterada, devido a coletas em horários diferentes.

Nascimento et al. (2006) verificaram o efeito do horário de corte sobre o rendimento do sobrenadante de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon* sp.), bem como sobre o teor de citral, componente majoritário do seu óleo essencial. Os horários de corte pesquisados foram 7, 9, 11, 13, 15 e 17 horas. Houve diferença estatística entre os horários, sendo o corte realizado às 7 h o que apresentou maior rendimento (5,06 mL/kg). O maior percentual de citral ocorreu por ocasião do corte realizado às 13 horas (91,7%). Porém, este é o horário de menor produção de óleo essencial.

Carvalho Filho et al. (2006) investigaram a interferência do horário de coleta (8h, 12h e 16h), associado à diferentes temperaturas de secagem (40° C, 50°C e 60°C), na composição do sobrenadante de óleo essencial de folhas de manjerição (*Ocimum basilicum* cultivar Fino Verde). Os compostos majoritários deste sobrenadante de óleo essencial são linalol e eugenol. Foi observado aumento na concentração de linalol proveniente do sobrenadante de óleo essencial extraído do

manjeriço colhido às 16 horas e seco a 40° C, porém, a maior concentração de eugenol foi observada no sobrenadante de óleo essencial extraído de folhas frescas, colhido às 16 horas. Estas alterações na composição química do sobrenadante de óleo essencial podem ser explicadas pela conexão entre a variação de temperatura com a atividade metabólica das plantas.

2.5.3 Pós-colheita

A composição do sobrenadante de óleo essencial sofre alterações durante os processos de colheita e pós-colheita, devido a conversões espontâneas, que ocorrem continuamente, acarretando mudanças na composição do óleo essencial. Com base nestes fatos, a comercialização torna-se um problema, já que a composição do sobrenadante de óleo essencial deve ser pré-estabelecida como demanda de mercado (BEZERRA et al., 2008).

Os constituintes voláteis aromáticos presentes nas plantas medicinais são os componentes mais sensíveis ao processo de secagem. O efeito da secagem sobre a composição de substâncias voláteis tem sido pesquisado no sentido de demonstrar que as variações nas concentrações de seus constituintes, durante a secagem, dependem do método e temperatura do ar empregada, características fisiológicas, além de conteúdo e tipo de componentes químicos presentes nas plantas submetidas à secagem (VENSKUTONIS, 1997).

A secagem pode aumentar o número de modificações físicas e químicas negativas, alterando a qualidade da matéria-prima para a sua comercialização como, por exemplo, mudanças em aparência (coloração), cheiro e possíveis perdas de constituintes voláteis. Esses fatores requerem trabalhos de pesquisa, cujo objetivo é estudar os possíveis efeitos da secagem e do armazenamento de plantas medicinais, sob condições pré-estabelecidas (BARITAUX et al., 1992).

A secagem diminui a velocidade de deterioração do material, por meio da redução no teor de água, atuando regressivamente na ação das enzimas, possibilitando a conservação das plantas por maior tempo. Com a redução da quantidade de água, aumenta-se, também, a quantidade de princípios ativos em relação à massa seca (SILVA e CASALI, 2000).

A secagem ao sol, para muitas plantas medicinais, é totalmente desaconselhável, visto que o processo de foto de composição pode ocorrer de

maneira intensa, degradando os componentes químicos e ocasionando alterações de odor, cor e sabor (MARTINS, 2000).

Carvalho Filho et al. (2006), pesquisaram o rendimento e a composição do sobrenadante de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* cultivar Fino Verde) submetido a diferentes temperaturas de secagem. Folhas, inflorescências e plantas frescas foram secas em estufa com circulação de ar forçada, em períodos de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13 e 16 dias após a colheita, ele concluiu que a maior concentração de linalol, composto majoritário, foi obtida no quinto dia de secagem (86,8%) quando comparada à composição do sobrenadante de óleo essencial extraído de material fresco (45,2%).

Guimarães et al. (2008) investigaram a estabilidade do sobrenadante de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* frente aos fatores luz e temperatura, visando condições de armazenamento capazes de manter a qualidade final do óleo essencial. Os componentes citral e mirceno sofreram degradação no período de 120 dias, tanto em presença quanto em ausência de luz. A temperatura contribuiu para a degradação do mirceno, não se observando mesmo para o citral. Isto demonstra que este composto não sofre influência da temperatura no processo de degradação. Os autores concluíram que o mesmo deve ser armazenado ao abrigo da luz, não necessitando, porém, de temperaturas muito baixas.

De acordo com Solomons (2001), em presença de luz, compostos orgânicos podem gerar radicais devido à quebra homolítica de reações químicas, que podem reagir com outras moléculas, gerando novos radicais, bem como com o oxigênio atmosférico, gerando peróxidos, hiper-peróxidos, que são compostos instáveis capazes de serem transformados em novos radicais ainda mais reativos.

2.5.4 Estádio de desenvolvimento

A idade e o estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar não apenas a quantidade total de metabólitos secundários produzidos, mas a proporção relativa destes compostos. Tecidos mais jovens geralmente apresentam grande atividade biossintética, aumentando a produção de vários compostos, dentre estes, os óleos essenciais.

Silva et al. (2003), estudando a relação entre o estágio de desenvolvimento e o sobrenadante de óleos essenciais em plantas de *Ocimum basilicum* encontraram

maior produtividade na colheita realizada aos dez meses após o plantio, em relação à colheita realizada aos cinco meses após o plantio.

Nemeth et al. (1993) estudando espécies selvagens de *Achillea crithmifolia* sob diferentes condições ambientais e fases de desenvolvimento da espécie, verificaram que a proporção de cânfora no sobrenadante de óleo essencial decresceu à medida que a planta avançou nas suas fases fenológicas, quando a mesma se encontrava tanto em ambiente quente ou quanto frio. Já para o 1,8 - cineol, foi observado comportamento contrário.

Tavares et al. (2005) analisaram o sobrenadante de óleo essencial de três quimiotipos de *Lippia alba*, provenientes de regiões diferentes, cultivados em condições semelhantes, avaliando-se, dentre outros fatores, a influência do período reprodutivo (floração) no rendimento e composição química dos óleos essenciais. A extração foi realizada quando as plantas se encontravam em crescimento vegetativo e durante a floração. A análise dos óleos essenciais mostrou que não houve variação na composição do sobrenadante de óleo essencial com relação aos componentes majoritários (geranial e neral) nos dois estádios de desenvolvimento da planta. Já a análise quantitativa destes elementos mostra que a percentual de citral (geranial + neral), carvona e linalol sofreu uma ligeira diminuição durante a época de floração, observando-se aumento no percentual do limoneno. Os autores concluíram que a extração de sobrenadante de óleo essencial de *L. alba* para a obtenção de citral, carvona e linalol deve ser efetuada em plantas em fase de crescimento vegetativo, estágio em que o rendimento do óleo e os teores dos componentes majoritários são maiores.

Sanda et al. (2001) verificaram que o rendimento de *Ocimum gratissimum* em folhas frescas permaneceu relativamente constante, em torno de 0,16 %, durante cinco meses de cultivo. Até os três meses, p-cimeno foi o principal constituinte (23,0%), enquanto nos dois últimos meses o timol foi o constituinte majoritário (27-30%). Para *O. basilicum*, até o quarto mês o sobrenadante de óleos essenciais foi 0,26 %, mas decresceu para 0,14 %, do último mês de estudo. O principal constituinte foi o estragol que permaneceu praticamente constante durante a pesquisa (81-83%) (VOIRIN et al., 1990).

2.6 O Gênero *Lippia*, suas Espécies e Uso Medicinal

O gênero *Lippia* é um dos dois maiores da família Verbenaceae, sendo primeiramente descrito em 1753 por Linnaeu, incluindo muitas espécies medicinais e aromáticas, sendo encontrado na América do Sul e Central e na África Tropical (VICCINI et al., 2006). Na América do Sul, este gênero reúne aproximadamente 254 taxons, incluindo espécies e variedades, a maioria concentrada no Brasil, Paraguai e Argentina. No Brasil, os principais centros de diversidade específica desse gênero estão localizados na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais e na Chapada Diamantina, na Bahia (SALIMENA, 2002).

Muitas espécies deste gênero são utilizadas em programas fitoterápicos e de complementação alimentar no Brasil, sendo a *Lippia alba* (Mill.) e a *Lippia. Sidoides* Cham. as espécies mais conhecidas e estudadas sob o ponto de vista químico e agrônômico (PASCUAL et al., 2001; LEAL et al., 2003; DUARTE et al., 2005).

O amplo emprego popular de espécies deste gênero ao redor do mundo concentra-se no tratamento de disfunções gastrointestinais ou respiratórias e hipertensão (PASCUAL et al., 2001a). Em muitos casos, as partes utilizadas são as folhas e flores, as quais são comumente preparadas em infusão ou decocção, mas também utilizadas oralmente ou através de emplastos e lavagens para ferimentos (LORENZI e MATOS, 2002).

As espécies desse gênero caracterizam-se por possuir notáveis atividades biológicas comprovadas cientificamente, e, dentre estas, a mais registrada é a atividade antimicrobiana, a qual está associada à sua constituição química, que na grande maioria é rica em constituintes de natureza fenólica (LEMOS et al., 1990). Muitas espécies de *Lippia* contêm monoterpenos como constituintes majoritários dos óleos essenciais os quais exibem uma variedade de atividades biológicas, sendo o timol, carvacrol, citral e *p*-cimeno os compostos mais frequentemente encontrados e responsáveis por tais atividades observadas.

Os constituintes químicos de *Lippia alba* (Mill.), por exemplo, têm ação sedativa, antiespasmódica e estomáquica (GOMES et al., 1993). O extrato aquoso de *Lippiasidoides* é dotado de acentuado efeito antisséptico, anti-inflamatório e cicatrizante (PASCUAL et al., 2001). *L. multiflora* Moldenke tem ação eficaz contra malária (VALENTIN et al., 1995) e no tratamento da hipertensão (NOAMESI, 1977).

Lippia dulcis Trevir é principalmente usada no tratamento da tosse e bronquite (COMPADRE et al., 1986).

2.7 A *Lippia sidoides* Cham.

Dentre as plantas utilizadas com propósitos medicinais a *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim pimenta) destaca-se como espécie que teve o cultivo ampliado em vários estados brasileiros, devido à inclusão em programas de fitoterapia (MATOS e OLIVEIRA, 1998), estando inclusive listada na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde, a RENISUS.

Trata-se de arbusto densamente ramificado, nativo do semi-árido nordestino, de até três metros de altura, com ramos providos de folhas muito aromáticas e picantes, as flores são pequenas, esbranquiçadas, reunidas em espigas de eixo curto nas axilas das folhas. Frutos do tipo aquênio, extremamente pequenos, cujas sementes raramente germinam. Pode ser multiplicada por estaquia usando-se, de preferência, os ramos mais finos. As mudas devem ser plantadas depois de bem enraizadas (um a dois meses), com espaçamento de três a quatro metros (LORENZI e MATOS, 2002).

O potencial medicinal da espécie pode ser comprovado pela intensa atividade antimicrobiana apresentada pelo óleo essencial, como bem demonstram os trabalhos de Lemos et al. (1990), Fontenelle, (2005), Oliveira et al.(2006) e Botelho et al. (2007). Este óleo essencial possui ainda atividade moluscicida contra o caramujo *Biomphalaria glabra*, e larvicida contra o estágio aquático do mosquito da dengue, *Aedes aegyptii* (LORENZI e MATOS, 2002; CAVALCANTI et al., 2004).

Lippia sidoides Cham. uma espécie que foi domesticada pela Universidade Federal do Ceará, sendo explorada comercialmente pela utilização do seu óleo essencial é composto principalmente por mono e sesquiterpenos, destacando-se como constituintes majoritários o timol, evidenciando também o carvacrol, substâncias que se constituem em matéria prima de grande importância e uso industrial, principalmente na farmacologia, cosméticos e recentemente na agricultura (MATOS et al., 1999)

O estudo fitoquímico dos extratos etanólicos de *L. sidoides* tem resultado no isolamento de vários constituintes químicos, tais como: taxifolina, isolariciresinol, ácido 3-oacetiloleanólico, benzoato de 3,4-dihidroximetila,

lapachenol, tecomaquinona, tectoquinona, tectol, tectol acetilado, quercetina, luteolina, glicoluteolina e lippisidoquinona (COSTA et al., 2002).

O estudo toxicológico pré-clínico agudo com extrato hidro alcoólico das folhas de *Lippia sidoides* Cham demonstrou, por via intraperitoneal em camundongos, que a DL₅₀ encontrada foi de 0,31 mg/mL, sendo considerada pelos autores uma alta toxicidade na via e forma utilizadas (ALMEIDA et al., 2010b).

Além de apresentar amplo potencial biológico, alguns produtos tecnológicos já estão sendo desenvolvidos a partir dessa espécie. Um estudo duplo-cego utilizando enxaguatório bucal sem álcool a partir do seu óleo essencial demonstrou que houve decréscimos nos índices de placa bacteriana e gengivite (BOTELHO et al., 2009). Em outro trabalho, foi observado que o gel composto por óleo essencial de *L. sidoides* e *Myracrodruon urundeuva* foi eficaz na periodontite, pois além de apresentar atividade antiinflamatória, impediu o crescimento de patógenos orais e preveniu a reabsorção óssea alveolar (BOTELHO et al., 2007b).

Paula et al. (2011) desenvolveram e caracterizaram nanoesferas encapsuladas com quitosana e goma de cajueiro, contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. no seu interior, para o controle das larvas de *Aedes aegypti*. Também a partir do óleo essencial foram desenvolvidos um gel e enxaguatório bucal para o controle de cárie em crianças entre 6 e 12 anos de idade, e comprovaram nesse experimento que ambas formulações foram bastante efetivas (LOBO et al., 2011).

Embora tenha sido comprovada a importância medicinal do alecrim-pimenta e seu processo de domesticação já ter sido iniciado (OLIVEIRA et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2009), dados sobre as respostas fisiológicas dessa espécie em virtude das condições climáticas são escassos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para a determinação do teor e composição de óleo de *Lippia sidoides* Cham. três experimentos foram conduzidos no Núcleo de Estudos de Olerícolas - NEO da Universidade Federal do Tocantins - UFT, Campus de Gurupi, localizada a 11° 43' S e 49° 04' N, a 278 m de altitude. O clima local é classificado segundo Köppen (1948)

como do tipo B1wA'a' "úmido com moderada deficiência hídrica". A temperatura média anual é de 26 °C, variando de 22 °C a 32 °C. A umidade relativa média do ar é de 76% e a precipitação, em média, 1804 mm anualmente.

Os dados climáticos ocorridos no período de condução dos experimentos foram coletados por uma estação meteorológica portátil da Universidade Federal do Tocantins- UFT – Campus Universitário de Gurupi localizada a 300m do local do experimento (Figura 3).

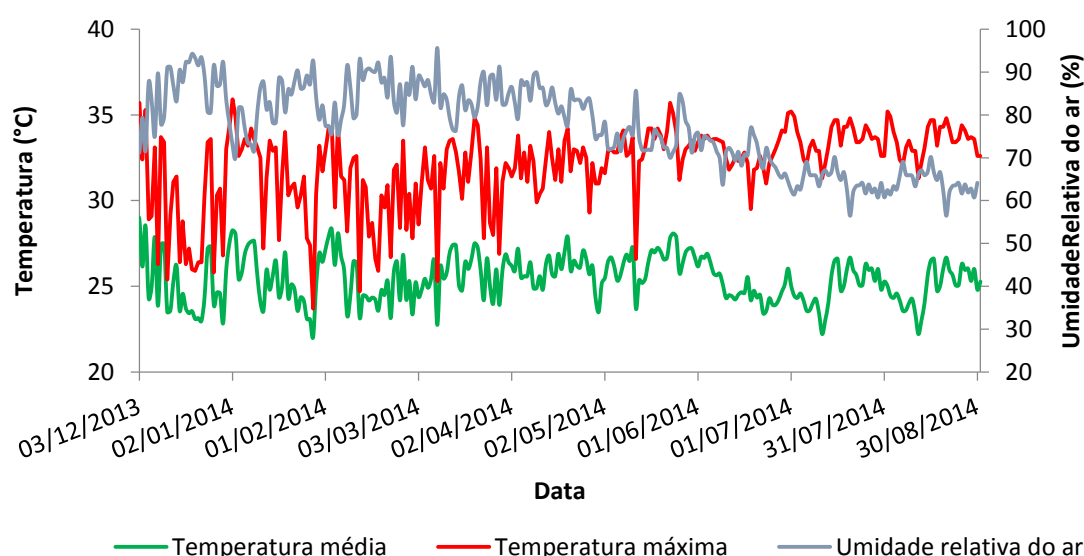


Figura 3. Umidade relativa do ar (UR), temperatura média (Tm) e temperatura máxima (Tmx), obtidos através da estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2015) para Gurupi ocorridos entre dezembro de 2013 e agosto de 2014 durante a condução do experimento.

3.1 Propagação e Obtenção de Mudanças

Para a formação das mudas utilizadas nos experimentos, foram coletadas estacas de plantas matrizes provenientes do acesso da Universidade Federal do Ceará – Projeto Farmácias Vivas, com idade aproximada de sete meses e mantidas sob as condições de campo da área experimental do NEO.

O plantio das estacas foi realizado em setembro de 2013, utilizando-se ramos com 17 cm de comprimento, com espessura variando entre 2 e 5 mm e que apresentavam no mínimo duas gemas vegetativas.

O enraizamento das estacas foi realizado em copos plásticos perfurados com volume de 700ml, utilizando-se como substrato terra de barranco e esterco bovino curtido na proporção 3:1, respectivamente (Tabela 1). Durante o enraizamento das estacas, os copos plásticos foram mantidos em casa de

vegetação, recebendo irrigação, tratos culturais e controle fitossanitário, sempre que necessário, até novembro de 2013.

Tabela 1. Análises físico-químicas do substrato utilizado para produção de mudas e crescimento das plantas de alecrim pimenta

Análise físico-química													
Ca	Mg	Al	Al+H	CTC(T)	SB	K	P(Mel)	V	M.O	Areia	Silte	Argila	pH
-----cmol/dm ³ -----					---mg/dm ³ ---			-----%-----					H ₂ O
3,2	1,3	0,0	1,3	6,2	4,8	135,2	66,0	77,8	4,2	53,1	11,2	35,7	5,08

3.2 Detalhes Experimentais e Condução dos Experimentos

A implantação dos experimentos em campo foi realizada no dia 19 de novembro de 2013, sendo conduzidos até agosto de 2014.

As mudas foram transplantadas para sacos plásticos com capacidade de 15 kg, utilizando-se o mesmo substrato da propagação das mudas (Tabela1). Foi realizado o plantio de uma muda por saco, perfazendo um total de 144 plantas, sendo 72 para experimento de idade de corte e 72 para experimento de horário de colheita. Os sacos foram dispostos em zigue-zague sobre o solo de canteiros em condições de campo, utilizando-se o espaçamento de um metro entre linhas e entre as plantas.

As plantas receberam duas irrigações por aspersão de vinte minutos diariamente, *sendo* uma realizada no período da manhã e outra à tarde. A lâmina de água aplicada foi suficiente para manter a umidade do substrato sempre próximo da capacidade de campo.

O controle de plantas invasoras dentro dos sacos plásticos e nos canteiros foram feitos sempre que necessário.

3.3 Experimento 1: Idade de Corte

Para a extração do óleo foram realizadas seis coletas com intervalos de 30 dias entre cada. As coletas foram realizadas aos 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após o transplantio (DAT), de março a julho de 2014. As plantas foram coletadas entre 7 e 8 horas, sendo cortadas 10 cm acima do solo e levadas ao laboratório para desfolha. A desfolha foi realizada manualmente retirando-se todas as folhas das

plantas. Após a desfolha realizou-se a determinação de massa fresca das folhas. Posteriormente as folhas foram colocadas em bandejas plásticas para desidratação em condições ambiente (temperatura de 24 a 26°C e umidade relativa de 50 a 60%) por um período de 72 horas.

3.4 Experimento 2: Horário de Colheita

Para a determinação do teor de óleo foram realizadas seis coleta em um único dia em diferentes horários (0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas). A coleta realizou-se quando as plantas utilizadas estavam com 220 dias após transplântio (DAT).

Para as amostras foram coletadas quantidades de ramos necessárias para a obtenção de aproximadamente 150 gramas de folhas que foram levados ao laboratório para desfolha. A desfolha foi realizada manualmente retirando-se todas as folhas dos ramos coletados. Posteriormente as folhas foram colocadas em bandejas plásticas para desidratação em condições ambiente (temperatura de 24 a 26°C e umidade relativa de 50 a 60%) onde por um período de 72 horas.

3.5 Experimento 3: Condições de Secagem

Para a determinação do teor de óleo foi realizada uma única coleta dos ramos remanescentes do experimento 2, quando as plantas apresentavam 250 dias pós transplântio (DAT). A coleta foi realizada entre 7 e 8 horas. Após coletadas foram levados ao laboratório para proceder as desfolha, onde se obteve uma amostra única e homogênea. A partir dessa amostra, foram separados sub-amostras contendo 50g que foram acondicionadas em sacos de papel, identificadas e secas em estufas de circulação forçada de acordo com tempo e temperatura estabelecidos para os tratamentos.

Os tratamentos avaliados foram compostos por três períodos de secagem, que foram 24, 48 e 72 horas e três temperaturas distintas de secagem sendo 30; 40 e 50°C perfazendo nove tratamentos, com quatro repetições cada, totalizando com 36 parcelas.

3.6 Determinação da Matéria Seca

Para a determinação da matéria seca e quantificação do teor de água de cada amostra utilizada na hidrodestilação foi utilizado um aparelho Analisador de

Umidade por Infravermelho – Modelo IV 2500 – GEAHAKA. De posse dos dados da umidade das amostras realizava-se o cálculo da matéria seca em função do peso de cada amostra utilizada.

3.7 Determinação do Teor de Óleo

Na determinação do teor de óleo da *Lippia sidóides* Cham. Utilizou-se o processo de hidrodestilação em aparelho de Clevenger adaptado. Nos experimentos de idade de corte e horário de coleta foram pesados 50 g de folhas desidratadas, acondicionadas em balão volumétrico de 2000 ml e adicionado 1000ml de água destilada. Já no experimento de tempo versus temperatura de secagem foram utilizados 20g de amostra no balão volumétrico de 1000ml e adicionado 500ml de água destilada.

O processo de hidrodestilação foi realizado em 80 minutos de forma ininterrupta. Em seguida o óleo sobrenadante foi retirado com auxílio de pipeta com pera e acondicionados em frascos âmbar e levados a pesagem em balança analítica e anotado valor em planilha.

O cálculo do teor de óleo essencial em cada amostra foi realizado pela seguinte fórmula:
$$\text{Teor de óleo (\%)} = \frac{\text{Massa}}{\text{massa seca de folhas em (g)}} \times 100$$

3.8 Dados Estatísticos

Experimento 1: Utilizou-se o delineamento experimental de Blocos Casualizados - DBC, com 6 tratamentos e quatro repetições. Cada tratamento foi constituído por uma data de coleta e cada canteiro foi considerado uma repetição, totalizando 24 parcelas. Cada parcela foi composta por três plantas, totalizando 72 plantas. Os valores das repetições de cada tratamento obtidos nas respectivas datas de coleta foram submetidos a análise de regressão. A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 11.0 (SIGMAPLOT, 2008).

Experimento 2: Utilizou-se o delineamento experimental de Blocos Casualizados - DBC, com seis tratamentos e quatro repetições. Cada tratamento foi constituído por um horário de coleta e cada canteiro foi considerado uma repetição, totalizando 24 parcelas. Cada parcela foi composta por três plantas, totalizando 72 plantas. Os valores das repetições de cada tratamento obtidos nas respectivas datas

de coleta foram submetidos à análise de regressão. A análise de regressão foi realizada com auxílio do programa SigmaPlot 11.0 (SIGMAPLOT, 2008).

Experimento 3: Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado disposto em um arranjo fatorial 3x3 (três temperaturas e três períodos de secagem) com quatro repetições. Os valores obtidos foram submetidos a análise de variância e posteriormente foi comparado as médias entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, auxílio do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 1998).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1: Idade de Corte

Na determinação da tendência do teor de óleo essencial (Figura 4), os valores coletados nas diferentes idades da planta, foram plotados em um gráfico de dispersão a partir do qual foi gerado o modelo quadrático ($TO = 4,22 + 0,014x - 0,00008x^2$), o qual melhor se ajustou a distribuição dos dados ao longo do período,

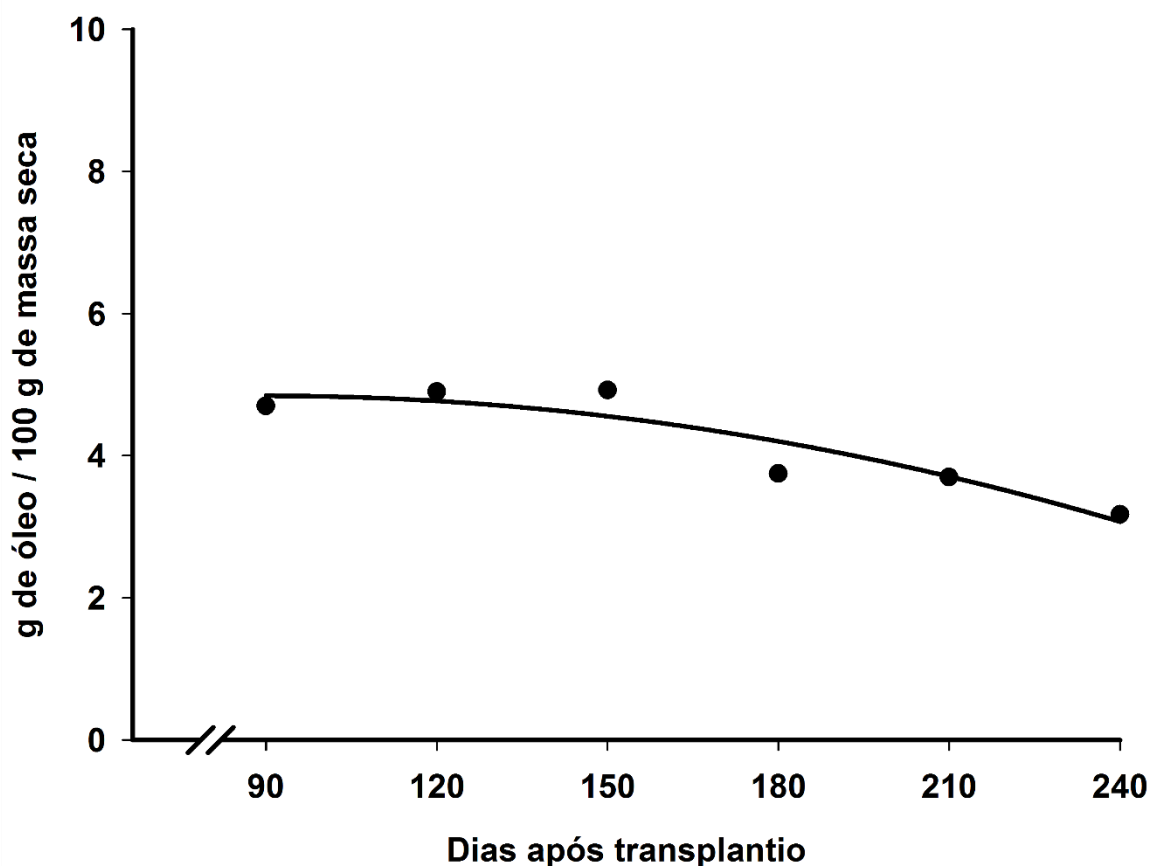


Figura 4. Curvas de resposta do teor de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em função da variação do tempo das coletas.

sendo os valores de $R^2 = 0,93$; $s = 0,36$; $p \text{ valor} \leq 0,05$ de probabilidade de erro.

De acordo com o modelo gerado, observa-se que a tendência de maior teor de óleo seria em torno dos 87,5 DAT, diminuindo para cortes anteriores ou posteriores a esta (Figura 4). No entanto, a ausência de dados observados para datas abaixo de 90 DAT poderia resultar em uma estimativa de tendência duvidosa para plantas mais jovens.

Resultados semelhantes a estes também foram encontrados por Figueiredo et al.(2009) em *Lippia sidoides*, em Montes Claros – MG nas seguintes idade de corte (120,

180,240, 300 e 360 DAT), embora o teor de óleo essencial tenha decrescido linearmente com o aumento do número de dias após o transplante. Em outras espécies de plantas medicinais, como *Cymbopogon citratus*, comportamento semelhante também foi observado, havendo decréscimo no teor de óleo essencial com o aumento do número de dias após o plantio (LEAL et al., 2003).

Esta resposta parece estar relacionada com a redução da atividade metabólica em função do aumento da idade da planta, o que acarreta reduções da síntese total de óleo essencial. Tal fato deve-se ao aumento da quantidade de folhas senescentes em relação às fisiologicamente ativas com o aumento da idade da planta, acarretando redução acentuada na produção de óleo essencial. De acordo com Ming (1998), com o aumento da idade da planta ocorre uma redução da atividade fisiológica devido ao aumento da taxa de senescência foliar, cessando a biossíntese de óleo essencial nessas partes mais velhas, além de ser promovida a reciclagem do óleo para partes mais jovens da planta, diminuindo assim o seu teor nas folhas mais velhas, e consequentemente na produção total. Matos e Innecco (2002) e Camello et al. (2011) também sugerem que a medida em que a planta envelhece ocorrem reduções proporcionais dos processos biossintéticos, acarretando a atenuação da síntese de metabólitos secundários

No entanto, resultados aparentemente contrários foram observados para as espécies *Lippia alba* (SANTOS e INNECCO, 2004), *Mentha x piperita* (RODRIGUES et al., 2004), cujos menores teores de óleo essencial foram observados nas primeiras datas de coleta. Levando-se em conta que as coletas realizadas por ambos os autores ocorreram em idades inferiores (de 60 a 90 DAT) a da primeira coleta realizada nesse experimento (90 dias), não é de se estranhar que os valores do teor óleo por eles observados nas primeiras datas tenham sido inferiores aos observados nas datas posteriores. Segundo os mesmos autores, tal fato pode estar relacionado à menor maturidade fisiológica das plantas durante as primeiras coletas. A ocorrência do menor rendimento de óleo essencial em plantas medicinais jovens está associada ao fato de as mesmas apresentarem grande quantidade de folhas em desenvolvimento, demandando elevada quantidade de substrato (fotoassimilados) para seu crescimento e manutenção, diminuindo assim a disponibilidade de substrato para as rotas do metabolismo secundário. Assim, o modelo quadrático aqui gerado é capaz de descrever a tendência do teor de óleo mesmo em plantas mais jovens do que as aqui avaliadas, não inviabilizando sua utilização.

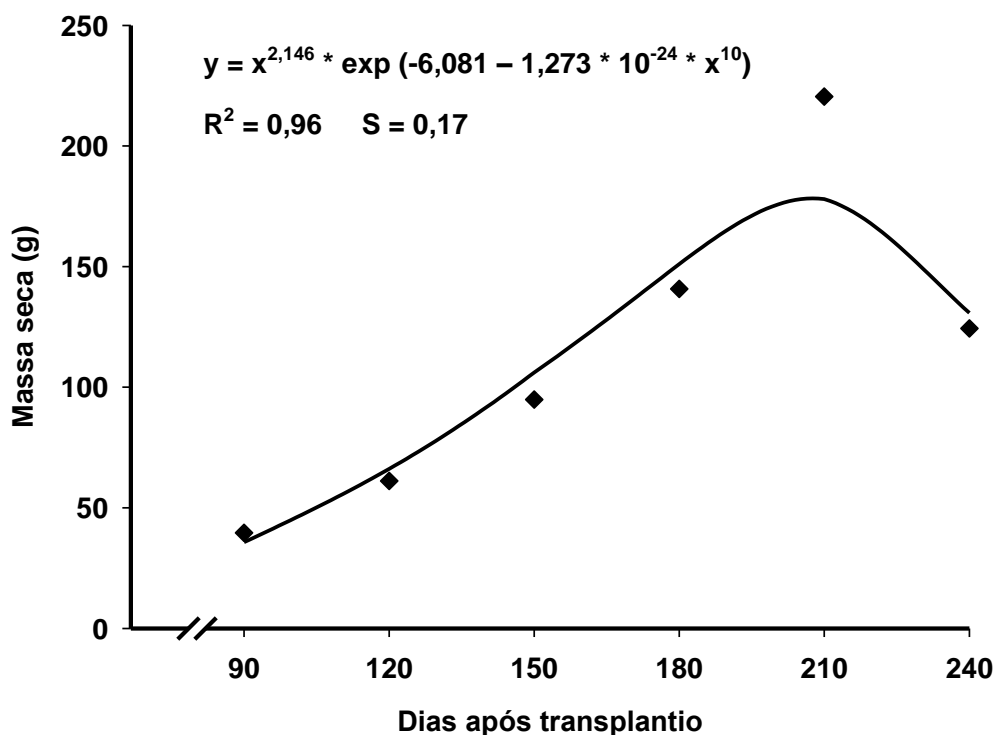


Figura 5. Curvas de resposta da massa seca de *Lippia sidoides* Cham. em função da variação do tempo das coletas.

Na determinação da tendência da massa seca das plantas, os valores observados nas diferentes idades foram plotados em um gráfico de dispersão a partir do qual foi gerado o modelo exponencial de pressão de vapor ($y = x^{2,146} * \exp(-6,081 - 1,273 * 10^{-24} * x^{10})$), o qual melhor se ajustou a distribuição dos dados ao longo do período ($R^2 = 0,96$; $S = 0,17$) (Figura 5).

Ao se analisar a massa seca ao longo do período descrito pelo modelo, observam-se os maiores valores situando-se entre 210 DAT seguindo-se a tendência de redução desta variável a partir do citado período (Figura 5).

Resultados semelhantes também foram observados por Figueiredo et al., (2009) em Montes Claros – MG, ao avaliar a massa seca de *Lippia sidoides* nas seguintes idade de corte (120, 180, 240, 300 e 360 DAT), constatando que os maiores valores ocorreram próximos a última data de corte, diminuindo para cortes antecedentes ou posteriores a esta data Chagas et al.(2011) ao avaliar a massa seca de *Mentha arvensis*, também encontrou os maiores valores nas últimas datas de corte, embora o período de coleta por eles realizado tenha sido inferior (de 60 a 120 DAT) aos aqui avaliados. Segundo os autores, o decréscimo da massa seca ocorrido por ocasião das últimas coletas deve-se ao fato de a planta ter atingido o pico do estágio reprodutivo e iniciar a

senescência das folhas maduras na sequência. Resposta semelhante também foi verificada nas plantas aqui avaliadas.

No entanto, ao avaliar a variação da massa seca de *Lippia alba* em Gurupi – TO em diferentes idades (60, 75, 90, 105 e 120 DAT) Batista Neto (2012) encontrou resposta diferente, onde os valores da massa seca crescem linearmente até a última data de coleta. O aumento da massa seca observado pelo autor está relacionado ao fato de as plantas por ele avaliadas encontrarem-se em fase anterior de crescimento, ocorrendo, naturalmente, aumento linear.

Assim, o modelo gerado é capaz de representar a tendência da massa seca de *Lippia sidoides* Cham. mesmo em plantas mais jovens do que o aqui avaliado, não

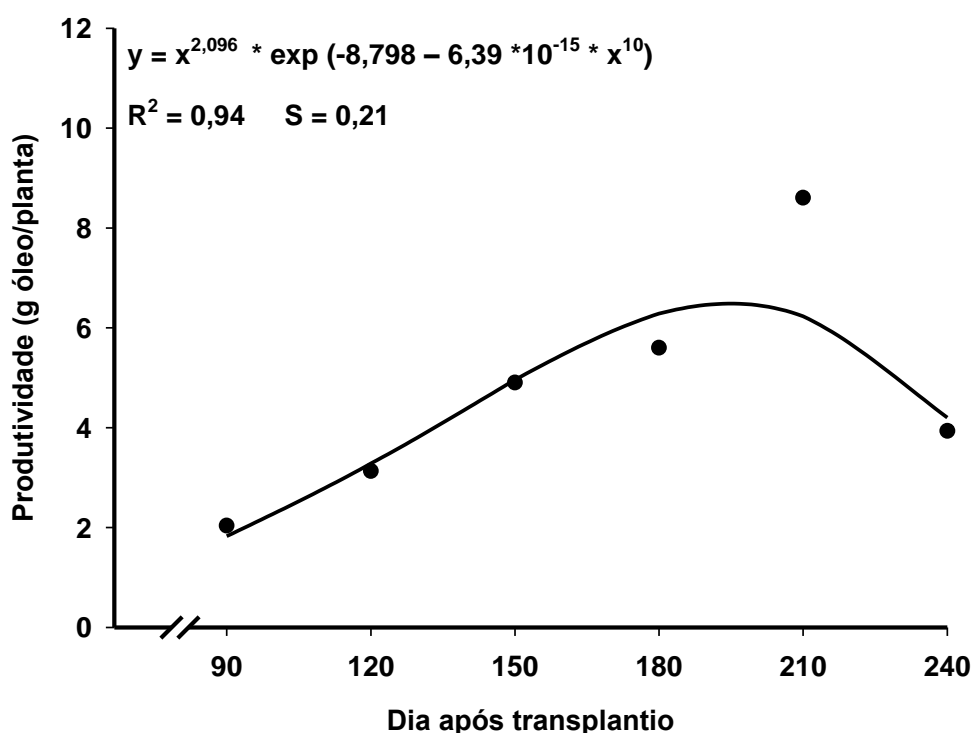


Figura 6. Curvas de resposta da produtividade de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em função da variação do período de coleta.

tendência da massa seca das plantas, os valores observados nas diferentes idades foram plotados em um gráfico de dispersão a partir do qual foi gerado o modelo exponencial ($y = x^{2,096} * \exp(-8,798 - 6,39 * 10^{-15} * x^{10})$), o qual melhor se ajustou a distribuição dos dados ao longo do período ($R^2 = 0,94$; $S = 0,21$) (Figura 6).

Ao se analisar a produtividade de óleo por planta ao longo do período descrito pelo modelo, observam-se os maiores valores situando-se entre 220 DAT seguindo-se a tendência de redução desta variável a partir do citado período (Figura 6).

Observa-se que os maiores valores de produtividade ocorrem em torno dos 220 DAT, evidenciando essa data como a de tendência de maior rendimento.

Com uma produção de 5,75 g de óleo por planta aos 220 DAT, considerando um plantio utilizando espaçamento entre plantas de um por um metro, em um hectare teremos 10.000 plantas, alcançado a produtividade de óleo essencial de 57,5 kg ha⁻¹.

O comportamento da curva assemelha-se ao observado na determinação da massa seca de folhas, evidenciando maior influência dessa variável sobre o rendimento de óleo. Assim, a data de coleta de maior rendimento de óleo (220 DAT) deu-se muito próximo a data de maior rendimento de massa de matéria seca (210 DAT). Tal resposta está relacionada à maior variabilidade ocorrida na massa seca em relação a do teor de óleo.

Resultado semelhante foram observados por Amaral et. al. (2014), que ao avaliar rendimento de massa seca e do teor de óleo em Camomila cv. Mandirituba em diferentes idades de colheita (85 a 113 dias após emergência). Estes autores constataram que a massa de matéria seca foi a principal determinante do rendimento do óleo essencial. Segundo Martins et al. (1994), a colheita deve ser realizada observando-se principalmente o rendimento de biomassa seca da parte aérea, uma vez que o teor de óleo essencial pode não ser o fator determinante para o maior rendimento de óleo.

4.2 Experimento 2: Horários de Colheita

Na determinação da tendência do teor de óleo essencial nos diferentes horários de corte (Figura 7), os valores observados foram plotados em um gráfico de dispersão a partir do qual foi gerado o modelo quadrático ($T0 = 3,47 - 0,096x + 0,0045x^2$), o qual melhor se ajustou a distribuição dos dados ao longo do período, sendo os valores de $R^2 = 0,86$; $s = 0,15$; $p \text{ valor} \leq 0,05$ de probabilidade de erro.

De acordo com o modelo gerado, observa-se que a tendência de menores valores para o teor de óleo fica por volta de 10:40 minutos, aumentando o teor de óleo em horários de corte inferiores a 10:40 minutos e superiores. Os maiores teores tendem a ser obtidos em horários próximos as 00:00 horas. Esses resultados evidenciam a variação temporal do teor de óleo durante o período de coleta.

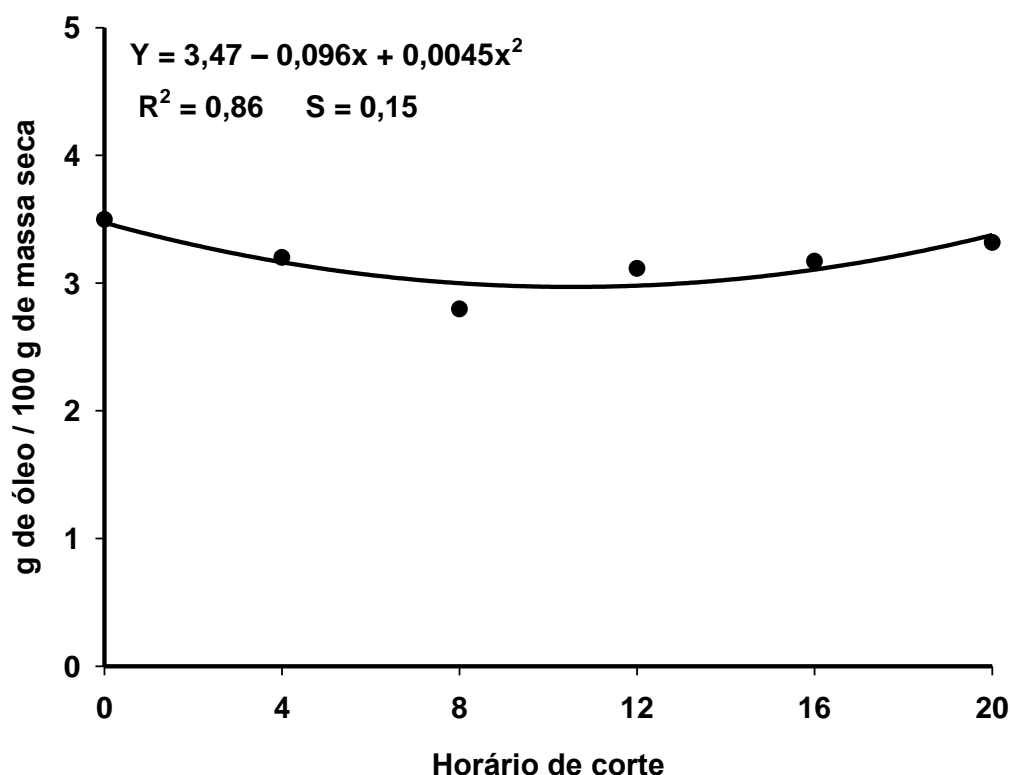


Figura 7. Curvas de resposta do teor de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em função da variação dos horários de colheita.

De acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), as concentrações de óleos voláteis de uma planta tendem a variar significativamente durante os diferentes horários do ciclo dia/noite. Segundo Silva et al. (2003) os teores de óleo essencial são influenciados pelas variações climáticas ocorridas ao longo do dia. Santos et al. (2004) e Marchese e Figueira (2005) também mencionam que a alteração de fatores ambientais como temperatura e radiação fotossinteticamente ativa durante o período diurno podem influenciar diretamente o metabolismo primário, afetando, assim, o metabolismo secundário e consequentemente a biossíntese de óleos essenciais.

Melo et al. (2011), ao avaliar a influência de diferentes horários de corte (6, 9, 12, 15 e 18 h) sobre o teor de óleo essencial de *Lippia sidoides* em Montes Claros - Minas Gerais, relatam que o maior teor de óleo ocorreu nas coletas realizadas próximo às 10:00 horas. Esses resultados divergem dos aqui observados.

Os menores valores obtidos no período de 10:40 minutos, estimados pelo modelo aqui utilizado, também divergem dos resultados observados em trabalhos com as espécies *Cymbopogon winterianus* Jowitt (BLANK et al., 2007), *Ocimum basilicum* L. (CARVALHO FILHO et al., 2006), ambos realizados em São Cristóvão -

Sergipe, *Mentha piperita* L. Huds (SOUZA et al., 2006) realizado em Campinas –São Paulo, onde os horários favoráveis ao maior teor de óleo ocorrem preferencialmente no período da manhã.

No entanto, resposta semelhante ao presente trabalho foi constatada por Batista Neto (2012), ao avaliar a influência do horário de corte (0, 4, 8, 12, 16 e 20 h) sobre o teor de óleo essencial em *Lippia alba* e nas condições climáticas de Gurupi/TO. Os autores observaram menores teores nos cortes realizados próximos às 12:00 horas. Miranda, (2012) avaliando o efeito do horário de corte (0, 4, 8, 12, 16 e 20 horas) sobre o teor de óleo essencial em capim santo (*Cymbopogon citratus*) na mesma região também observou menor teor de óleo por volta das 12 horas (meio dia), enquanto nos demais horários ocorreram acréscimo do teor, atingindo o máximo às 16 e 0 horas. Segundo esses autores, os menores teores de óleo essencial obtidos ao meio dia estão relacionados a maiores temperaturas ocorridas neste horário, causando assim sua volatilização, superando o efeito induzido pela maior taxa fotossintética. Melo et al. (2011) argumentam que a ocorrência de menores teores de óleo durante o período diurno pode estar relacionada ao acúmulo de óleo essencial durante a noite, havendo perda, no decorrer do dia, por volatilização.

A redução do teor de óleo essencial observada no presente trabalho pode estar relacionada aos aspectos climáticos locais, quando as altas irradiações e temperaturas ocorridas durante esse horário afetariam direta e indiretamente sua produção e conservação. De acordo com Santos e Innecco (2003), durante o dia podem ocorrer variações, tanto da intensidade luminosa como da temperatura, atuando diretamente no metabolismo primário (fotossíntese e respiração), influenciando indiretamente a produção de metabólitos secundários e os constituintes do óleo essencial, cuja síntese depende de produtos do metabolismo primário. O aumento da temperatura e irradiação diurna ocasiona aumento da respiração celular, com a possibilidade de promover a re-metabolização de parte do conteúdo de óleo como substrato auxiliar na manutenção da respiração celular. Dessa maneira, as maiores intensidades luminosas e temperaturas ocorridas em torno do meio dia, nas condições climáticas do Tocantins, parecem ocasionar a redução na taxa de assimilação líquida, aumento da respiração e volatilização do óleo essencial, o que justificaria a redução observada no seu teor neste horário.

4.3 Experimento 3: Condições de Secagem

A determinação do efeito da combinação de diferentes tempos e temperaturas de secagem sobre o teor de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. foi realizada por meio de teste de comparação de médias. Os valores observados apresentaram distribuição normal de acordo com teste de Shapiro-Wilk, não sendo necessária a transformação dos mesmos.

O resumo da análise de variância do teor de óleo é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Análise da variância do teor de óleo essencial (%) de plantas de *Lippia sidoides* Cham. em relação à combinação de diferentes temperaturas e tempos de secagem

Causa da variação	Graus de Liberdade	Quadrado médio do resíduo
		Teor de óleo (%)
Temperatura	2	0,396**
Tempo	2	0,0597 ^(ns)
Temperatura x Tempo	4	0,205 ^(ns)
Resíduo	27	0,244
Media	-----	3,051
CV _{exp} (%)	-----	6,79

^(ns) e ** = valor não significativo e significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F, respectivamente. CV_{exp.} = coeficiente de variação experimental.

De acordo com os resultados na análise de variância, observa-se que apenas a variável temperatura apresentou efeito significativo sobre o teor de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. Esses resultados são melhor visualizados na (Figura 8), onde percebe-se que apenas no período de 24 horas de secagem ocorreram alterações significativas no teor de óleo em função da variação da temperatura. Isto demonstra que períodos de secagem superiores a 24 horas são desnecessários, pois o teor de óleo não diferiu significativamente entre as temperaturas utilizadas nos períodos superiores a 24 horas de secagem.

Resultados diferentes foram observados por Radünz et al. (2001) que ao avaliar o efeito das temperaturas de secagem : ambiente , 40, 50, 60e 70°C, sobre o teor de óleo essencial *Lippia sidoides*, partiu de uma massa fresca com 66,3% de umidade e chegou 11% umidade final, não considerado tempo, obtiveram 2,93% de óleo para massa fresca , para a secagem em temperatura ambiente ocorreu uma redução de 8% o teor de óleo essencial, e a secagem com temperaturas do ar a 40,

50, 60 e 70°C não apresentaram diferenças estatísticas entre si, mas 2% de decréscimo em relação a testemunha.

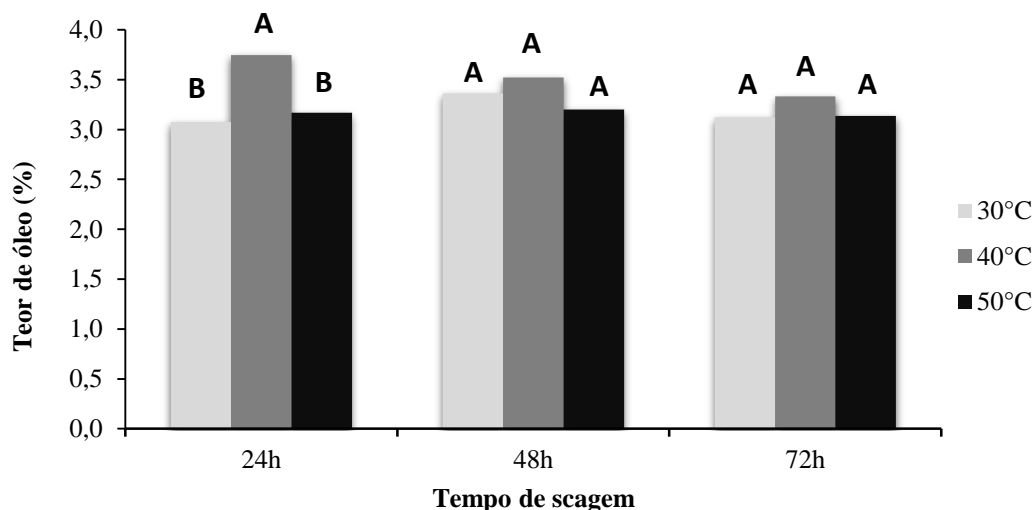


Figura 8: Teor de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em resposta à combinação de diferentes tempos e temperaturas de secagem. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Devido à ocorrência de efeito não significativo do tempo de secagem sobre o teor de óleo essencial, os valores observados nos três períodos avaliados foram agrupados em um único conjunto de dados amostral, separando-os apenas em relação às diferentes temperaturas de secagem utilizadas.

Os maiores teores de óleo obtidos na temperatura de 40° C estão em conformidade com resultados observados por Miranda (2012) ao avaliar a influência da mesma combinação de temperaturas e tempo de secagem em *Cymbopogon citratus*, constatando, também, que o teor do óleo essencial da temperatura de 40°C foi estatisticamente superior aos demais o qual diverge do resultado encontrado por Martins (2000) para a mesma planta, em temperaturas do ar de 40, 50 e 60° C. Tendo a temperatura influenciado na extração do óleo essencial, ocorrendo aumento no rendimento de óleo essencial, em função do aumento na temperatura do ar de secagem. Esse aumento no rendimento de óleo foi de 21%, em relação ao obtido no produto fresco.

Blanco et al. (2002b) ao estudar o efeito de três temperaturas (40, 60 e 80° C) no processo de secagem de *Mentha piperita* sobre o teor do óleo essencial, também constataram teor de óleo essencial significativamente superior na temperatura de

secagem de 40°C. Resposta semelhante foi descrita por Leal (1998), ao avaliar seis temperaturas de secagem (30, 40, 50, 60, 70 e 80° C) de folhas de capim-santo, constatando que a temperatura de 40°C permitiu a obtenção do teor de óleo mais elevado em relação às demais temperaturas analisadas.

Miranda (2012), também observou que o tratamento com temperatura de 30° C resultou em menores teores de óleo, provavelmente devido à menor secagem do material, pois o maior conteúdo de água na planta implicaria em maior período de destilação para ocorrer evaporação total da água dos tecidos e concomitante liberação do óleo neles contidos. Radünz et al. (2002) mencionam que a secagem adequada das folhas é imprescindível para facilitar a extração do óleo em plantas aromáticas. De acordo com Silva e Casali (2000), com a redução da quantidade de água, aumenta-se, também, a quantidade de princípios ativos em relação à massa seca.

No entanto, essa mesma justificativa poderia contradizer os maiores teores de óleo observados no tratamento com secagem a 40°C, o qual deveria apresentar maior conteúdo de água em relação aos tratamentos de maiores temperaturas, já que os tratamentos de secagem a temperaturas de 50 e 60°C apresentaram teores de óleo inferiores aos obtidos em 40°C. Contudo, o rendimento reduzido destes tratamentos sob maiores temperaturas de secagem (50 e 60°C) podem estar relacionadas ao aumento da fluidez e volatilidade do óleo essencial nestas temperaturas. Conforme Leal (1998), em temperaturas de 70 e 80°C o rendimento de óleo foi mais baixo do que os comparados a 40°C, argumentando que nessas temperaturas teria ocorrido volatilização excessiva do óleo essencial durante o período de secagem em comparação com a ocorrida em tratamentos com menores temperaturas. Segundo Simões e Spitzer (2003), a principal característica dos óleos essenciais é a sua volatilidade, a qual tende a aumentar com o aumento da temperatura. Além da volatilização, em temperaturas superiores a 40°C, muitas estruturas secretoras de óleos essenciais podem ser danificadas, facilitando ainda mais, as perdas de óleo essencial durante a secagem (TIWING, 1991).

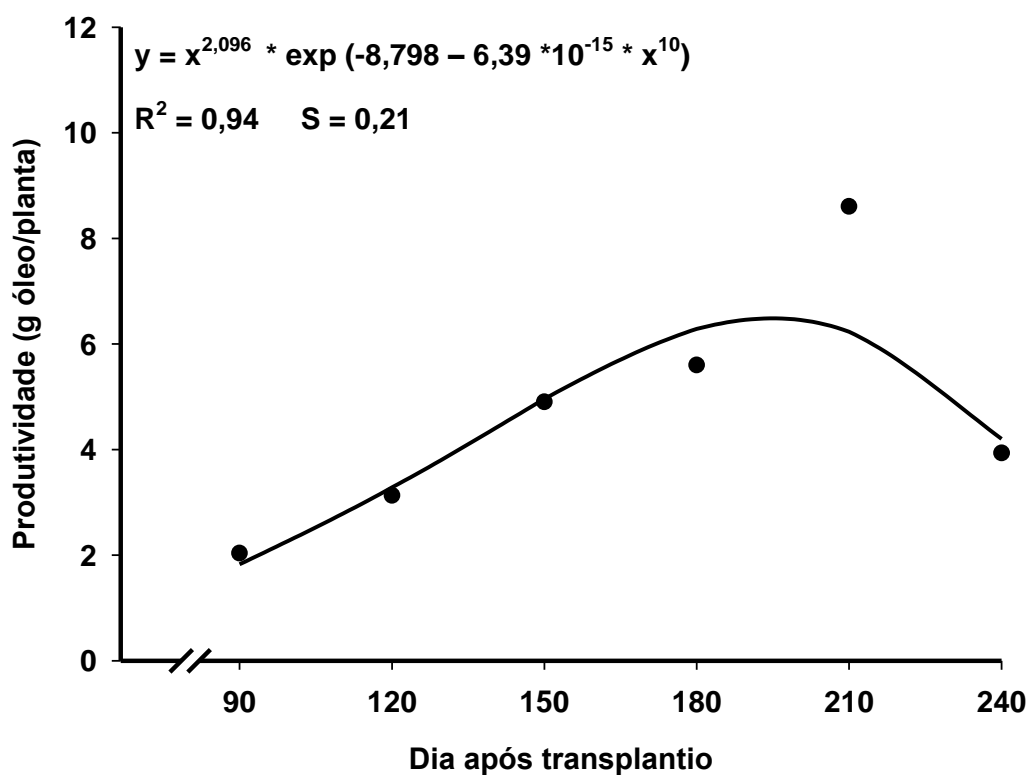


Figura 9. Curvas de resposta da produtividade de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em função da variação do período de coleta.

5 CONCLUSÕES GERAIS

- A planta de *Lippia sidoides* Cham. apresentou:
 - Maior teor de óleo essencial próximo aos 87,5 DAT.
 - Os maiores valores para massa seca situando-se aos 210 DAT
 - Maior produtividade de óleo essencial aos 220 DAT.
- O horário de coleta da folha de *Lippia sidoides* Cham. que proporcionou o maior rendimento do teor de óleo essencial é próximo às 24 horas.
- O tempo na secagem não influenciou na extração de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.
- A temperatura de 40 °C proporcionou máxima conservação do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e conseqüentemente maior extração do mesmo.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A.C.; SOBRINHO, E.M.; PINHO, L.; SOUZA, P.N.S.; MARTINS, E.R.; DUARTE, E.R.; SANTOS, H.O.; BRANDI, I.V.; CANGUSSU, A.S.; COSTA, J.P.R. 2010b **Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal**. *Ciência Rural*, v. 40, n. 1, p. 1-4.
- AMARAL, W. et al. 2014. **Desenvolvimento da camomila, rendimento e qualidade do óleo essencial em diferentes idades de colheita**. *Rev. bras. plantas med.* [online]., vol.16, n.2, pp. 237-242. ISSN 1516-0572.
- ASHIHARA, H.; MONTEIRO, A. M.; GILLIES, F. M. & CROZIER, A.1996 **Biosynthesis of caffeine in leaves of coffee**. *Plant Physiology*, 111:747-753.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. 2008. **Biological effects of essential oils: a review**. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, n. 2, p. 446-475,
- BARITAUX, O.; RICHARD, H.; TOUCHE, J.; DERBESY, M. 1992. **Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil. Part I. Basil, *Ocimum basilicum* L.** *Flavour and Fragrance Journal*, v.7, p.267-271.
- BARROS, F.M.C.; ZAMBARDA, E.O.; HEINZMANN, B.M. 2009. **Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae)**. *Química Nova*, vol. 32, p. 861-867.
- BATISTA NETO, **Avaliação do horário de coleta, idade da planta e de acessos a produção de óleo essencial de erva cidreira *Lippia alba***, 2012. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) -Universidade Federal do Tocantins-UFT.
- BAUER, K.; GARBE, D. 200. **Common Fragrance and Flavor Materials. Preparation, Properties and Uses**.4ª ed., Wiley-VCH Verlag VmgB.
- BERG, M. E. V. D. 1993. **Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático**. 2 ed. Rev. e Aum.- Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. 1993.
- BEZERRA A. M. E.et al. 2008. **Produção e composição química da macela em função da época de colheita**. *Horticultura Brasileira*, vol. 26, p. 26-29.
- BHAVANANI SM, BALLOW CH 1992. New agents for Gram-positive bacteria. *Curr Opin Microbiol* 13: 528-534.
- BLANCO, M.C.S.G.; MING, L.C.; MARQUES, M.O.M.; BOVI, O.A. 2002b. **Drying temperature effects in Rosemary essential oil content and composition**. *Acta Horticulturae*, n.569, p.99-103.
- BLANK AF; FONTES SM; OLIVEIRA AS; MENDONÇA MC; SILVA-MANN R.; ARRIGONIBLANK MF. 2005. **Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa**. *Horticultura Brasileira* 3: 780-784.

BLANK, A.F., et al., 2007. **Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil.** Brazilian Journal of Pharmacognosy. v.17, p. 557-564.

BOTELHO, M. A.; RUELA, R. S.; MONTENEGRO, D.; COSTA, J. G. M.; SANTOS, J. A.; FRANÇA, M. C, 2007b **Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens.** Brazilian Journal of Medical Biology Research On Line, v.40, n.3, p.349-356.

BOTELHO, M. A. et al. 2007. **Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens.** Brazilian Journal of Medical Biology Research On Line, vol. 40, n. 3, p. 349-356.

BOTELHO, M. A. et al. 2009. **Comparative effect of an essential oil mouthrinse on plaque, gingivitis and salivary *Streptococcus mutans* levels: a double blind randomized study.** PhytotherapyResearch, vol. 23, n. 9, p. 1214-1219.

BRASIL. Ministério da Saúde. Direção de Administração e Finanças. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. 2009b. **RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS.** 1p. Disponível em: pdf>. Acesso em: 05/06/14.

BRISKIN, D.P. 2000. **Medical plants and phytomedicines Linking plants biochemistry and physiology to human health.** Plant Physiology, vol. 124, p. 507-514.

BRUNETON, J., 1995. **Pharmacognosy phytochemistry medicinal .In: BRUNETON, J. Terpenoids and steroids essential oils.** 2. Ed. Londres: Lavoisier, p. 405 -426.

BRUNETON, J., 1999. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants** 2nd ed. Paris: Lavoisier Secaucus: Intercept, 799 p.

CALIXTO, J. B. 2003. **Biodiversidade como fonte de medicamentos.** Ciência e Cultura. vol. 5, n. 3, p. 37-39.

CAMÊLO L. C. A., BLANK A. F., EHLERT, C. R. D. 2011, **Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de ervacideira- brasileira [*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.].** VOL. 7, NUM. 5., Scientia Plena. São Paulo – Brasil.

CARRARA, D. 1995. **Possangaba. O pensamento médico popular.** Ribro Soft Editoria e Informática Ltda. RJ-Brasil.

CARVALHO FILHO, J.L.S., et al. 2006. **Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil.** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.16, p. 24.

CASTRO, H. G., et al. 2006. **Análise do crescimento de acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) em dois ambientes.** Revista Ciência Agrônômica, v.37, n.1, p.44-49.

CAVALCANTI, E.S.B. et al., 2004. **Larvicidal activity of essential oils from brazilian plants against *Aedes aegyptii* L.** Memorial Instituto Oswaldo Cruz, v.99, n.5, p.541-4.

CHAGAS JH; PINTO JEBP; BERTOLUCCI SKV; SANTOS FM. 2011. **Produção de biomassa e teor de óleo essencial em função da idade e época de colheita em plantas de hortelã-japonesa.** Acta Scientiarum Agronomy 33: 327-334.

COMPADRE, C. M.; ROBBINS, E. F.; KINGHORN, A. D. 1986. **The intensely sweet herb, *Lippia dulcis* Trev: historical uses, field inquires, and constituents.** Journal Ethnopharmacology, vol. 15, p. 89-106.

COSTA, S.M.O.; LEMOS, T.L.G.; PESSOA, O.D.L.; CARLOS, A.J.; BRAZ-FILHO, R.,2002. **Constituintes químicos de *Lippia sidoides* (Cham.) Verbenaceae.** Revista brasileira de farmacognosia, v.12, p. 66-67.

CUNNINGHAM, F. X. Jr.; GANTT, E. 1998. **Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants.** Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, vol. 49, p. 557-583.

DI STASI, L.C. 1996. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência. Um guia de estudo Interdisciplinar.** São Paulo - SP:. Pp. 9-86.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A.; REHDER V.L.G. e DELARMELINA, C. 2005. **Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants.** Journal of Ethnopharmacology, 305-311.

ENGELKE, F. 2003. **Fitoterápicos e Legislação.** Jornal Brasileiro de Fitomedicina 1(1): 10-15.

FERREIRA, D. F. **Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados.** Lavras: UFLA, 1998. 19 p.

FIGUEIREDO LS, BONFIM FPG, SIQUEIRA CS, FONSECA MM, SILVA AH & MARTINS E.R.,2009. **Efeito da época de colheita na produção de fitomassa e rendimento de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.).** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, vol. 11:154-158.

FIGUEIREDO, L.S. et al. 2009 **Influência do ácido indolbutírico no enraizamento de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) em leito com umidade controlada.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.11, n.1, p.33-6.

FONSECA, M.C.M., et al. 2007. **Influência da época e do horário de colheita nos teores de óleo essencial e de taninos em couvecravinho (*Porophyllumruderale*) (Jacq.) Cassini.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.9, p. 75-79.

FONTENELLE, R. O. S. 2005. **Avaliação do potencial antifúngico de óleos essenciais de plantas do nordeste brasileiro frente a diferentes cepas de *Microsporium canis*, *Candida* spp. e *Malassezia pachydermatis*.** Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Reprodução e Sanidade Animal). Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, p. 81.

GOBBO - NETO, L.; LOPES, N. P. 2007. **Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários**. Química Nova, v. 30, n. 2, p. 374 -381.

GOMES, E.C., MING, L.C., MOREIRA, E.A., MIGUEL, O.G., MIGUEL, M.D., KERBER, V.A., CONTI, A. & FILHO, A.W. 1993. **Constituintes do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae)**. Revista Brasileira de Farmácia 72:29-32.

GUIMARÃES LGL; CARDOSO MGC; ZACARONI LM; LIMA RK; PIMENTEL FA; MORAIS AR.,2008. **Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF)**. Química Nova 31: 1476-1480.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). 2014. **Dados climáticos da Estação de Gurupi: série histórica de 1961 a 2014**. Banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível em:<<http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 14 jan. 2015.

KELSEY, R. G.; REYNOLDS, G. W.; RODRIGUEZ, E. 1984. **Biology and chemistry of plant trichomes**. Rodriguez E, Healey PL, Mentha I.; ed.; Plenum Press, New York.

KOEPPEN, W. 1948, **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra**. Fondo de Cultura Económica. 479p.

LAVABRE, M.,1992 **Aromaterapia –A cura pelos óleos essenciais**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Record.

LEAL, L.K.A.M.; OLIVEIRA, V.M.; ARARUNA, S.M.; MIRANDA, M.C.C. e OLIVEIRA, F.M.A.2003. **Análise de timol por CLAE na tintura de *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim pimenta) produzida em diferentes estágios de desenvolvimento da planta**. Revista Brasileira de Farmacognosia. 13, 09 -11.

LEAL, T. C. A. de. B. ,1998. **Produção de óleos essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf) em função de fatores endógenos e exógenos**. 62 f.Tese-Doutorado em Produção Vegetal.Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuárias,Universidade estadual do Norte Fluminense.Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro.

LEMOES, T.L.G.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; CRAVEIRO, A.A.; CLARK, A.M.; MCCHESENEY, J.D. 1990. **Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants**.PhytotherapyResearch, v. 4, n. 2, p. 82–84.

LIMA IO, OLIVEIRA RAG, LIMA EO, FARIAS NMP, SOUZA EL.2006. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida***. Rev. Bras. Farmacogn. 16: 197-201,

LIMA, H.R.P.; KAPLAN, M.A.C.; CRUZ, A.V.M. 2003. **Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas**. Floresta e Ambiente. v.10, n.2, p.71 –77.

LOBO, P.L.D.; FONTELES, C.S.R.; CARVALHO, C.B.M.; NASCIMENTO, D.F.; FONSECA, S.G.C.; JAMACARU, F.V.F.; MORAES, M.E.A. 2011 **Dose-response evaluation of a novel essential oil against *Mutans streptococci* in vivo**. Phytomedicine, v. 18, n. 7, p. 551-556.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. 2002 **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 512p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. 2008, **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 544p.

MARCHESE JA; FIGUEIRA GM. 2005. **O uso de tecnologia pré e pós-colheita e boas práticas agrícolas na produção de plantas medicinais e aromáticas**. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 7: 86-96.

MARTINS, E. R. et al. 1995. **Plantas Medicinais**. Viçosa: Editora UFV, p. 220.

MARTINS, E.R. et al., 1994. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 220p.

MARTINS, E.R.; SANTOS, R.H.S. 1995. **Plantas medicinais: uma alternativa terapêutica de baixo custo**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 26 p.

MARTINS, P.M., 2000. **Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e na composição química do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf)**. Viçosa: UFV, 77p. Dissertação Mestrado.

MATOS SH & INNECCO R., 2002. **Idade ideal de corte de *Mentha arvensis* L. como produtora de óleo essencial e mentol no Estado do Ceará, Brasil**. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*.

MATOS, F. I. A. et al. ,1999. **Medicinal plants of Northeast Brazil containing thymol and carvacrol – *Lippia sidoides* Cham and *L. gracillis* H.B.K. (Verbenaceae)**. *Journal of Essential Oil research*, vol. 11, p. 666-668.

MATOS, F. J. A; OLIVEIRA, F. 1998. ***Lippia sidoides* Cham. – farmacognosia, química e farmacologia**. *Revista Brasileira de Farmácia*, vol.70, n. 3-4 p. 84-87.

MELO, M.T.P.; RIBEIRO, J.M.; MEIRA, M.R.; FIGUEIREDO, L.S. MARTINS, E.R., 2011. **Teor de óleo essencial de alecrim-pimenta em função do horário de colheita**, *Ciência Rural*, Santa Maria, v.41, n.7, p.1166-1169.

MING, L.C., 1998 **Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. –**

Verbenaceae. In: MING, L.C. et al. **Plantas medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, p.165-91.

MIRANDA, V.C., 2012. **Influência de condições de secagem, sombreamento, horário de colheita e procedência das plantas sobre o teor de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins-UFT.

MORAIS, L.A.S., 2009. **Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais.** Horticultura Brasileira, 27:4050-4063.

NASCIMENTO IB; INNECCO R; MATOS SH; BORGES NSS; MARCO CA. 2006. **Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de óleoessencial de capim santo (*Andropogum* sp.).** Revista Caatinga 19: 123-127.

NÉMETH É; BERNÁTH J; HÉTHELYI É. 1993. **Diversity in chemotype reaction affected by ontogenetical and ecological factors.** Acta Horticulturae 344:178-187.

NOAMESI, B.K. 1977. **Power tea (*Lippia multiflora*) a potent hypertensive therapy. West African.** Journal of Pharmacology and Drug Research, vol. 4, p. 33-36.

OLIVEIRA, F. P. et al. 2006. **Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material.** Revista Brasileira de Farmacognosia, vol. 16, n. 4, p.510-6.

OLIVEIRA, G.L. et al. 2008 **Enraizamento de estacas de *Lippia sidoides* Cham. utilizando diferentes tipos de estacas, substratos e concentrações do ácido indolbutírico.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.10, n.4, p.127.

PASCUAL, M.E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; VILLAR, A., 2001a. **Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae).** II Fármaco, v.56, p. 501-504,

PASCUAL, M. E. et al. 2001. ***Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review.** Journal of Ethnopharmacology, vol. 76, p. 201-214.

PAULA, H.C.B.; SOMBRA, F.M.; CAVALCANTE, R.F.; ABREU, F.O.M.S.; PAULA, R.C.M. , 2011. **Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil.** Materials Science and Engineering: C, v. 31, n. 2, p. 173-178.

RADÜNZ, L. L. et al. 2002, **Efeitos da temperatura do ar de secagem sobre a qualidade do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham).** Revista Brasileira de Armazenamento, v.27, n.2, p. 9-12.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; BERBERT, P. A.; De GRANDI, A. M.; ROCHA, R. P., 2001. **"Efeito da temperatura de secagem na quantidade e qualidade do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)."** In CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, vol. 30.

RATES, S. M. K. 2001. **Plants as source of drugs.** Toxicon, vol. 39, p. 603-613.

RIBERO, D.S.; MELO, D.B.; GUIMARÃES, A.G.; VELOZO, E.S. 2012. **Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana.** Semina: Ciências Agrárias, v.33, n.2, p.687–696.

RIOS, J.L.; RECIO, M. ,2005. **Medicinal plants and antimicrobial plants.** Journal of Ethnopharmacology, v.100, p.80-4.

ROCHA, P. R. 2011. **Avaliação do teor e da composição do óleo essencial de *cymbopogon citratus* e *thymus vulgaris* submetidos a processos de secagem e armazenamento.** Tese (Doutorado)-Universidade federal de Viçosa, p. 149.

RODRIGUES, C.R.; FAQUIN, V.; TREVISAN D.; PINTO J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V. & RODRIGUES, T.M., 2004. **Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta.** Horticultura Brasileira, 22:576

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. 2001. **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na Região do Alto Rio Grande.** Minas Gerais. Ciência e Agrotecnologia, vol. 25, n. 1, p. 102-123.

SALIMENA, F. R. G. 2002. **Novos sinônimos e tipificação em *Lippia* sect. *Rhodolippia* (Verbenaceae).** Hickenia, vol. 3, p. 145-149.

SANDA K; KOBAYASHI K; AKPAGANA K; TCHEPANT T., 2001. **Content and chemical composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* L and *Ocimum gratissimum* L. at different harvesting dates after planting.** Rivista Italiana EPPOS 31: 3-7.

SANTOS, M. R. A. et al., 2004. **Caracterização anatômica das estruturas secretoras e produção de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Be,** Revista Ciência Agronômica, jul.-dez., 2004: Vol. 35, NO.2, 377 – 383.

SANTOS, M.R.A.; INNECO, R. 2003, **Influência de períodos de secagem de folhas de óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo limoneno-carvona).** Rev. Ciên. Agro, v.34, p.5-11.

SIGMAPLOT. 2008. **Statistics for user's guide,** Chicago, Systat Software Inc, p.578.

SILVA F; SANTOS RHS; DINIZ ER; BARBOSA LCA; CASALI VWD; LIMA RR. 2003. **Teor e composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em dois horários e duas épocas de colheita.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais 6: 33-38.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. 2000, **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais.** Viçosa: Arte e Livros, 135p.

SILVA, S.R.S., et al., 2003 **Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.6, p. 63-70.

SIMÕES, C. M. O. et al., 2007 **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre: UFSC. 1102 p

SIMÕES, C. M. O; SPITZER, V. 2003 **Óleos voláteis.** In: SIMÕES, C.M.O *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, p. 467-495.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; SIMÕES, C. M. O. et al. 1998. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 5ª ed. Porto Alegre. Ed. Universidade, UFRGS. p. 173.

SOLOMONS, T.W.G., 2006. **Química orgânica**. 7ª. Ed. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos. v.1.

SOUZA J.R.P.; MORAIS, H.; CARAMORI, P.H.; JOJANNSSON, L.; MIRANDA, L.V. 2008. **Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda**. Horticultura Brasileira 26: 40-44.

SOUZA WP; QUEIROGA CL; SARTORATTO A; HONÓRIO SL. ,2006**Avaliação do teor e da composição química de óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 8: 108-111.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 1998, **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 793p

TAIZ, L; ZEIGER, E. 2004. **Fisiologia vegetal**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Artmed.720 p.

TAVARES E.S.; JULIÃO L.S.; LOPES D.; BIZZO H.R. 2005 **Análise do óleo essencial de óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.(Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes**. Rev. bras.farmacogn. vol.15 nº.1 João Pessoa Jan./Mar.

TIWING, I. F.V. 1991, **Plantas aromáticas e medicinais**: plantio, colheita, secagem, comercialização. 2 ed. São Paulo. Ícone, 414p.

VALENTIN, A. et al. 1995. **Composition and antimalarial activity in vitro of volatile components of *Lippia multiflora***. Phytochemistry, vol. 40, p. 1439-1442.

VENSKUTONIS, P.R., 1997 **Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.)**. Food Chemistry, v.59, n.2, p.219-227.

VICCINI, L. F. et al. 2006.**Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae)**. Plant Systematics and Evolution, vol. 256, p. 171-178.

VOIRIN, B; BRUN, N; BAYET, C. 1990. **Effects of day length on the monoterpene composition of leaves of *M. x piperita***. Phytochemistry 29: 749-755.

WINKEL-SHIRLEY B., 2001 **Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology**. Plant Physiol 126: 485–493.